

Aus der I. Medizinischen Klinik und Poliklinik
Johannes Gutenberg-Universität Mainz
(Direktor: Professor Dr. R. Duesberg)

**Untersuchungen
über die biologische Verwertung
von organisch gebundenem ^{75}Se Selen
beim Kaninchen**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Johannes-Gutenberg-Universität
Mainz**

vorgelegt von
Michael Gerber aus Kassel

Mainz 1966

Aus der I. Medizinischen Klinik und Poliklinik
Johannes Gutenberg-Universität Mainz
(Direktor: Professor Dr. R. Duesberg)

**Untersuchungen
über die biologische Verwertung
von organisch gebundenem ⁷⁵Selen
beim Kaninchen**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Johannes-Gutenberg-Universität
Mainz**

vorgelegt von
Michael Gerber aus Kassel

Mainz 1966



Dekan: Professor Dr. Diethelm

Referent: P. D. Dr. F. Gramlich

Korreferent: Professor Dr. R. Duesberg

Inhaltsverzeichnis

I. Einleitung

II. Material

- 1.) Das Isotop
- 2.) Die Tiere

III. Methode

- A. Proteinmarkierung mit ^{75}Se in vivo:
 - 1.) Herstellung des ^{75}Se -Selenomethionin und ^{75}Se -Selenocystin
 - 2.) Herstellung von ^{75}Se -markierten Hefeproteinen:
 - a) durch Pasteurisation
 - b) durch Autoklavierung
 - 3.) Art der Applikation:
 - a) der ^{75}Se -markierten Aminosäuren
 - b) der ^{75}Se -markierten Aminosäuren unter Zusatz der übrigen essentiellen Aminosäuren
 - c) des ^{75}Se -markierten Hefeproteins:
 - c₁) intraperitoneal
 - c₂) subcutan
 - c₃) per oral
 - 4.) Aktivitätsmessung im Serum
 - 5.) Aktivitätsmessung im Urin
 - 6.) Aktivitätsmessung in den Organen

B. Spezielle Untersuchungen mit ^{75}Se -markierten Serumproteinen:

- 1.) Bestimmung der biologischen Halbwertszeit des Gesamtproteins im Serum
- 2.) Bestimmung der Verteilung des ^{75}Se in den einzelnen Serumproteinfraktionen
- 3.) Untersuchung des Plasmaproteinfilms an der Oberfläche normaler Kaninchenerythrocyten

IV. Ergebnisse

A. Proteinmarkierung mit ^{75}Se in vivo:

- 1.) Einbau des ^{75}Se in das Hefeprotein
- 2.) Einbau des markierten Materials in den Kaninchenorganismus
 - a) in die Serumproteine
 - b) in die Organe
- 3.) Aktivitätsausscheidung im Urin

B. Spezielle Untersuchungen mit ^{75}Se -markierten Serumproteinen:

- 1.) Die biologische Halbwertszeit des Gesamtproteins im Serum
- 2.) Verteilung der spezifischen Aktivität in den Serumproteinfraktionen
- 3.) Die normale Zusammensetzung des Plasmaproteinfilms an der Oberfläche von Kaninchenerythrocyten

V. Diskussion

A. Proteinmarkierung mit ^{75}Se in vivo:

- 1.) Die spezifische Aktivität der Serumproteine
- 2.) Die spezifische Aktivität der Organproteine
- 3.) Aktivitätsausscheidung im Urin

B. Spezielle Untersuchungen mit ^{75}Se -markierten Serumproteinen

- 1.) Die biologische Halbwertszeit des Gesamtproteins im Serum
- 2.) Verteilung der spezifischen Aktivität in den Serumproteinfraktionen

VI. Zusammenfassung

VII. Literaturverzeichnis



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554405_0033

I. Einleitung

In der Biologie fand das Halbmetall Selen bisher fast ausschließlich in anorganischen Verbindungen Verwendung. Da es dem Schwefel nach seiner Stellung im periodischen System der Elemente nahe verwandt ist, kann es diesen in den essentiellen Aminosäuren Methionin und Cystin¹⁰⁾ ersetzen. Die Selenanalogue dieser Thioaminosäuren können sowohl in vitro⁸⁰⁾⁸¹⁾⁸⁷⁾⁹¹⁾ als auch in vivo⁴⁾ hergestellt werden. Die chemische Synthese ist aber so kompliziert, daß sie gegenüber dem Züchtungsverfahren mit Hefe keine praktische Anwendung gefunden hat.

Es läßt sich eine reichhaltige Literatur über Versuche mit anorganischen Selenverbindungen in vivo übersehen, wobei ein Teil der Untersucher zu dem Ergebnis kommt, daß dabei eine echte Proteinmarkierung³⁸⁾⁴⁴⁾⁴⁶⁾⁴⁷⁾⁷²⁾⁸⁴⁾⁸⁶⁾ erzielt werden kann. Die Versuchsdeutungen blieben aber nicht unwidersprochen. Dagegen liegen bisher nur wenige Untersuchungen über die Proteinmarkierung in vivo mit den Selenanalogen der Thioaminosäuren vor.

In diesem Zusammenhang haben mikrobiologische Untersuchungen gezeigt, daß Selenomethionin und -cystin die schwefelhaltigen Aminosäuren in Bezug auf ihre biologischen Reaktionen, z. B. die Transmethylierung⁵¹⁾, ersetzen. Weiterhin werden sie in die Proteine⁷⁷⁾⁷⁸⁾⁷⁹⁾ eingebaut, ersetzen die Thioami-

nosäuren auch hier völlig¹¹⁾ und beeinflussen das normale Wachstum¹¹⁾¹⁵⁾ und die Synthese von enzymatisch aktiven Proteinen¹¹⁾ bei *Escherichia coli* nicht. Neben den biologischen Eigenschaften zeigen die Selenanaloge der Thioaminosäuren ein chromatographisches Verhalten⁴²⁾, das dem der schwefelhaltigen Aminosäuren durchaus gleicht. Hieraus ergibt sich also, daß sich die Se-markierten Aminosäuren im Stoffwechsel ebenso verhalten wie die Thioaminosäuren⁴⁾. Klinische Anwendung fand ⁷⁵Se bisher nur bei der Entwicklung der Szintigraphie des Pankreas mit Hilfe ⁷⁵Se-markierter Aminosäuren, die im Pankreas eine relative Anreicherung erfahren.

Es erscheint unverständlich, weshalb bisher außer den erwähnten Untersuchungen nicht auch Proteinmarkierungen in vivo mit den ⁷⁵Se-Analogen der Thioaminosäuren versucht wurden, zumal das Isotop ⁷⁵Se als γ -Strahler gegenüber den β -Strahlern, wie z.B. ³⁵Schwefel, die ebenfalls zur inneren Markierung von Proteinen verwendet werden, den Vorteil der leichteren Meßbarkeit besitzt. Andererseits ist eine derartige Proteinmarkierung mit einem γ -Strahler der bislang geübten äußeren Proteinmarkierung mit ¹³¹Jod vorzuziehen, da Denaturierungseinflüsse bei der Jodierung nie mit letzter Sicherheit vermieden werden können.

Nach diesen Ausführungen darf postuliert werden, daß sich die ^{75}Se -markierten Aminosäuren besonders gut zur Markierung von Proteinen in vivo und zum Studium des Verhaltens dieser nativen Proteine im Organismus eignen sollten.

In der vorliegenden Arbeit wurde versucht, eine möglichst einfache Methode zur Markierung der Plasmaproteine des Kaninchens in vivo herauszuarbeiten mit dem gleichzeitigen Ziel, möglichst hohe spezifische Aktivitäten zu erhalten. Anschließend wurde mit den markierten Serumproteinen die biologische Halbwertszeit des Gesamtproteins im Serum, die Verteilung des ^{75}Se in den einzelnen Serumproteinfraktionen und der Plasmaproteinfilm an der Oberfläche normaler Kaninchenerythrocyten untersucht.

II. Material

1.) Das Isotop:

Das verwendete ^{75}Se wurde vom Radiochemical Centre, Amersham als Natrium-Selenit in physiologischer NaOH-Lösung bezogen. Es hat eine Halbertszeit von 125 ± 5 Tagen²¹⁾³¹⁾ und stellt einen γ -Strahler dar. ^{75}Se wird durch Neutronenbestrahlung von ^{74}Se ⁸⁾²⁰⁾²¹⁾²⁵⁾⁸³⁾ oder durch Deuteronen- oder Protonen-Bombardement von Arsen¹⁾¹⁹⁾ hergestellt, aus den Spaltungsprodukten von Uran oder Plutonium³⁶⁾ isoliert und entsteht auch beim Zerfall von ^{75}Br ²⁾.

2.) Die Tiere:

Es wurden junge männliche und weibliche Kaninchen mit einem Gewicht von ca. 2 kg verwendet. Dabei handelte es sich um ein heterogenes Tiermaterial. Die Kaninchen wurden mit Altromin-K und Wasser ad libitum gefüttert. Sofern erforderlich, wurden die Tiere in Stoffwechselkäfigen gehalten.

III. Methode

A. Proteinmarkierung mit ^{75}Se in vivo:

1.) Herstellung des ^{75}Se -Selenomethionin und ^{75}Se -Seleno-Cystin:

Um den Schwefel in den Thioamino-säuren Methionin und Cystin durch ^{75}Se zu ersetzen, wurde die schwefelarme Hefekultur⁴⁾ von Williams und Dawson verwendet, die pro Liter folgende Substanzen enthält:

50 mg Bäckerhefe

20 g Glukose

3,5 g $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$

0,2 g KH_2PO_4

0,25 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$

1,0 g Natriumcitrat

2,5 g L-Asparaginmonohydrat

10 μg Biotin

0,5 mg Calciumpantothenat

10 mg Inositol

6 mg Thiamin

1 mg Pyridoxin

400 μg Zn^{2+} (als Azetat)

150 μg Fe^{3+} (als Chlorid)

25 μg Cu^{2+} (als Chlorid)

In dieser Kultur konkurrieren Selen und Schwefel bei der Biosynthese von Methionin und Cystin durch die Hefezelle miteinander.

Nach Einstellen auf p_H 5 mit halbverdünnter H_3PO_4 und Zusatz von ca. 3 m Ci ^{75}Se wurde die Kultur 21-24 Stunden lang bei 37° inkubiert und anschließend die Hefe durch 10-minütiges Zentrifugieren bei 3 500 rpm. geerntet. Der Überstand wurde nach Zusatz von 20 g Glukose, 50 mg Bäckerhefe und nochmaligem Einstellen auf p_H 5 zum zweiten Mal inkubiert und nach 20-27 Stunden die zweite Ernte vorgenommen. Das gewonnene Hefeprotein wurde mit 5 n HCL 5 Stunden lang unter Wasserkühlung und in CO_2 -Atmosphäre hydrolysiert und die HCL anschließend im Rücklaufkühler unter Hitze 2 Stunden lang verdampft. Schließlich wurde das so erhaltene ^{75}Se -markierte Aminosäuregemisch vor der Verabreichung an die Tiere mit 1 n NaOH neutralisiert.

2.) Herstellung von ^{75}Se -markierten Hefeproteinen:

a) durch Pasteurisation:

In der Vorstellung, daß die Versuchstiere vermutlich markierte Hefeproteine ebenso gut wie markierte Aminosäuren für die Proteinsynthese verwenden können, wurde in den folgenden Versuchen darauf verzichtet, die ^{75}Se -markierten Aminosäuren durch Hydrolyse darzustellen. Stattdessen wurde das geerntete Hefeprotein in seiner Gesamtheit vor der Injektion pasteurisiert.

siert, um das Hefewachstum zu hemmen. Die Keimabtötung erfolgte durch dreimaliges 30 Minuten langes Erhitzen des Hefevollpräparates in einem Wasserbad von 100°. Zwischen den Kochprozeduren wurde durch Eintauchen in Eiswasser jeweils 15 Minuten lang abgekühlt.

b) durch Autoklavierung:

Schließlich wurde das Hefeprotein bei den letzten Versuchen nicht mehr pasteurisiert, sondern 30 Minuten lang bei 120° mit 1 atü Überdruck autoklaviert.

Von den Hefekulturen, den abzentrifugierten Überständen, den ^{75}Se -markierten Aminosäuregemischen und den pasteurisierten oder autoklavierten Hefeproteinen wurden die Gesamtvolumina bestimmt und Proben zur Aktivitätsmessung entnommen, so daß die den einzelnen Kaninchen applizierten Aktivitäten und die Ausbeuten an ^{75}Se -markierten Plasmaproteinen berechnet werden konnten.

3.) Art der Applikation:

a) der ^{75}Se -markierten Aminosäuren:

Das durch Hydrolyse gewonnene Gemisch von ^{75}Se -Aminosäuren wurde den Kaninchen kombiniert subcutan an der lateralen Brust- und Bauchwand und intraperitoneal in einer oder drei Fraktionen im Abstand von 24 Stunden injiziert.

b) der ^{75}Se -markierten Aminosäuren unter Zusatz der übrigen essentiellen Aminosäuren:

In einem weiteren Versuchsansatz wurden dem ^{75}Se -markierten Aminosäuregemisch die übrigen essentiellen Aminosäuren in einem annähernd physiologischen Verhältnis, das dem normalen Nahrungsbedarf der Ratte etwa entspricht, und einer Gesamtmenge, die die Hälfte des Gewichtes des ^{75}Se -markierten Aminosäuregemisches ausmacht, zugesetzt und einem Kaninchen subcutan in drei Fraktionen im Abstand von 17 bzw. 24 Stunden injiziert.

c) des ^{75}Se -markierten Hefeproteins:

Die pasteurisierten oder autoklavierten ^{75}Se -markierten Hefeproteine wurden auf drei verschiedene Arten den Kaninchen zugeführt:

c₁) intraperitoneal in einer bzw. drei Fraktionen im Abstand von 24 Stunden.

c₂) subcutan an der lateralen Brust- und Bauchwand in je vier Fraktionen im Abstand von 24 - 25 Stunden.

c₃) per oral in einmaliger Gabe durch eine Schlundsonde.

4.) Aktivitätsmessung im Serum:

Jedem Kaninchen wurden in bestimmten Zeitabständen ca. 1 ml Blut aus der Ohrrendvene entnommen, das Serum nach der Gerinnung 5 Minuten lang bei 3 000 rpm. in einer Tischzentrifuge

fuge abzentrifugiert und die Gesamtaktivität an ^{75}Se , die sogenannte freie Aktivität nach Eiweißfällung mit dem gleichen Volumen 20%iger Trichloressigsäure (TCA) und der Gesamteiweißgehalt in g% nach Biuret (E bei $546\mu\text{m}$, Faktor 18,3) des abgeheberten Serums bestimmt. Alle Aktivitätsmessungen wurden in einem Szintillationszähler FH 90 mit NaJ-Bohrlochkristall der Firma Friesseke & Höpfner, Erlangen vorgenommen. Die Geometrie der Meßanordnungen blieb bei den einzelnen Messungen konstant. Die Koinzidenz und die physikalische Halbwertszeit für ^{75}Se wurden berücksichtigt. Aus der Differenz der Gesamtaktivität und der freien Aktivität wurde die im Protein gebundene Aktivität und aus dieser die spezifische Aktivität des Serumproteins unter Berücksichtigung des Gesamteiweißgehaltes berechnet. Diese ist als Impulse/min/mg Protein definiert.

5.) Aktivitätsmessung im Urin:

Hierfür wurden die Kaninchen in Stoffwechselkäfigen gehalten, die ein quantitatives Sammeln des spontan gelassen 24-Stunden-Urins erlaubten, wobei auf eine Blasenkatheterisierung verzichtet wurde. Die ausgeschiedene Urinmenge wurde gemessen und in Proben von jeweils 0,1 ml des 24-Stunden-Urins die ^{75}Se -Aktivität bestimmt. Aus den erhaltenen Werten wurde durch Multiplikation die Gesamtaktivitätsmenge berechnet, die in 24 Stunden ausgeschieden worden war.

6.) Aktivitätsmessung in den Organen:

Die Kaninchen, denen pasteurisiertes oder autoklaviertes ^{75}Se -markiertes Hefeprotein intraperitoneal, subcutan oder per oral zugeführt worden war, wurden am 2., 3., 4., 11. bzw. 12. Tag nach der letzten Zufuhr des markierten Materials durch intravenöse Evipan-Überdosierung getötet. Nach der Entblutung durch Herzpunktion wurden die Tiere mit ca. 2 l physiologischer NaCl-Lösung durch eine Kanüle, die in die Aorta thoracica eingeführt worden war, perfundiert, um möglichst alles Blut auch aus dem Gewebe zu entfernen und dadurch fehlerhafte Veränderungen der Organaktivitäten durch in den Organen zurückgebliebenes Blut zu verhindern. Dann wurden von Leber, Milz, Pankreas, Darm, Niere, Lunge, Herz, Knochenmark, Muskulatur und bei einigen Tieren auch von Großhirn, Kleinhirn, Thymus, Ovar und Testes Proben mit einem Trockengewicht zwischen 10 und 1 000 mg willkürlich entnommen, das Gewebe mechanisch zerkleinert und die Gesamtaktivität jeder entnommenen Probe bestimmt. Auch hierbei wurde darauf geachtet, daß die Geometrie der Meßanordnung gewahrt blieb. Anschließend wurden die Proben bei 150°C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Aus dem Trockengewicht und den gemessenen Impulswerten wurde die spezifische Aktivität der Organe berechnet und als Impulse/min/mg Trockengewicht des Organs festgelegt.

B. Spezielle Untersuchungen mit ^{75}Se -markierten

Serumproteinen:

Die nach den oben beschriebenen Methoden in vivo ^{75}Se -markierten Serumproteine wurden zu drei verschiedenen Untersuchungen benutzt:

1.) Bestimmung der biologischen Halbwertszeit des Gesamtproteins im Serum:

Zu diesem Zweck wurde bei den Kaninchen, denen ^{75}Se -markiertes Aminosäuregemisch oder Hefeprotein-Pasteurizat subcutan und intraperitoneal in einer oder drei Fraktionen zugeführt worden war, 40-50 Tage lang die spezifische Aktivität des Serumproteins und die freie Aktivität an ^{75}Se nach den oben beschriebenen Methoden bestimmt, und zwar während der ersten 2-3 Wochen täglich, in den folgenden 1-2 Wochen jeden 2. Tag und in den letzten 2 Wochen jeden 3.-4. Tag. Die erhaltenen Werte an spezifischer Aktivität des Serumproteins wurden entsprechend der Halbwertszeit des ^{75}Se von 125 Tagen auf den Tag der ersten Injektion des markierten Materials umgerechnet und somit der physikalische Aktivitätsabfall eliminiert. Die Höhe der spezifischen Aktivität der Serumproteine, aufgetragen auf der Ordinate, in Abhängigkeit von der Zeit, aufgetragen auf der Abszisse, ergab in halblogarithmischer Darstellung eine Kurve (siehe Abbildung II), aus deren linear abfallendem Teil die biologische Halbwertszeit der Gesamtserumproteine durch Halbierung von t_0 (=Schnittpunkt der Ver-

längerung des linearen Teils der Kurve mit der Ordinate) und Aufsuchen des Zeitwertes für $t_0/2$ auf der Abszisse bestimmt werden kann.

2.) Bestimmung der Verteilung des ^{75}Se in den einzelnen Serumproteinfraktionen:

Um die Aktivität an ^{75}Se in den verschiedenen Serumproteinen quantitativ zu bestimmen, wurde das Blut von 6 Kaninchen am 2., 3., 4., 11. oder 12. Tag nach der letzten Injektion durch Herzpunktion gewonnen. Diesen Kaninchen war pasteurisiertes oder autoklaviertes ^{75}Se -markiertes Hefeprotein durch subcutane Injektion in 4 Fraktionen, durch intraperitoneale in 3 Fraktionen oder durch einmalige per orale Gabe zugeführt worden. Von dem gewonnenen Blut jedes einzelnen Kaninchens wurde nach der Gerinnung das Serum abzentrifugiert, abgehebert und anschließend einer präparativen Elektrophorese unterworfen (Vertikalelektrophorese-Apparatur nach BECKMAN, Modell CP, angelegte Spannung: 600 Volt, Verdünnung des Serums 2:1 mit DOLE-Puffer, p_H 8,6, Ionenstärke 0,05, Durchfluß 1,5 ml/h). Diese Manipulation wurde bei 4°C durchgeführt und dauerte 11 - 13 Stunden. Dabei wurde das Serum in 16 - 24 Fraktionen getrennt. In jeder Fraktion wurde nach den oben beschriebenen Methoden der Gesamtproteingehalt, die Gesamtaktivität und der Anteil an freiem ^{75}Se gemessen und daraus die spezifische Aktivität der einzelnen, in Röhrchen gewonnenen Proteinchargen

berechnet. Da der Gehalt an freiem ^{75}Se in den einzelnen Proteinfraktionen stets unter 3% der Gesamtaktivität lag, blieb er unberücksichtigt.

3.) Untersuchung des Plasmaproteinfilms an der Oberfläche normaler Kaninchenerythrocyten:

Diese Untersuchungen wurden in Anlehnung an H.E. Müller und F. Gramlich⁵²⁾⁵³⁾⁵⁴⁾⁵⁵⁾ durchgeführt, wobei auch die Methoden dieser Autoren exakt kopiert wurden: Zu diesem Zweck wurden die Plasmaproteine von Kaninchen durch subcutane Injektion von pasteurisiertem oder autoklaviertem ^{75}Se -Hefeprotein markiert und das Blut der Tiere nach 2 bzw. 3 Tagen gewonnen. Das Serum wurde in einer Präparativelektrophorese nach der auf Seite 12 beschriebenen Methode in 13 bzw. 18 Einzelfraktionen aufgetrennt. Jeweils 5 ml Blut, das von einem gesunden Kaninchen auf Natriumoxalat abgenommen worden war, wurden mit den einzelnen Proteinfraktionen inkubiert, wobei möglichst hohe Aktivitäten eingesetzt wurden. Innerhalb von einer Stunde stellt sich ein Gleichgewicht zwischen frei gelösten und an der Erythrocytenoberfläche adsorptiv gebundenen Proteinen ein. Anschließend wurden die Einzelproben einer Waschprozedur unterworfen. Hierbei nimmt die Menge der in der Lösung vorhandenen Proteine schneller ab als die durch Differenzrechnung bestimmte Menge der an die Erythrocytenoberfläche adsorptiv gebundenen Proteine. Es wird für verschiedene Proteine ver-

schieden schnell und bei verschiedener Konzentration eine sogenannte Gleichgewichtsmenge (P_G) erreicht. Sie ist konventionell so definiert, daß im Überstand und an der Erythrocytenoberfläche gleich große Aktivitäts- und damit gleich große Proteinmengen vorhanden sein sollen und wird in Prozent der Gesamtaktivitätsmenge der jeweiligen markierten Proteinfraction in der Vollblutprobe ausgedrückt. Aus dem relativen Vergleich der Gleichgewichtsmengen der einzelnen Proteinfractionen, deren Summe gleich 100% gesetzt wurde, ergibt sich die prozentuale Zusammensetzung des Proteinfilmes an der Erythrocytenoberfläche (P_E). Theoretische Ableitungen über die hier gemachten Ausführungen finden sich ebenfalls bei Müller und Gramlich⁵²⁾

IV. Ergebnisse

A. Proteinmarkierung mit ^{75}Se in vivo:

1.) Einbau des ^{75}Se in das Hefeprotein:

Tabelle I faßt die verschiedenen prozentualen Ausbeuten an markiertem Material zusammen, das als Thioaminosäuren nach Hydrolyse oder als sterilisiertes Hefeprotein nach Pasteurisation oder Autoklavierung erhalten wurde. Die Ausnutzung liegt mit 40 - 70% bei den vier ersten Ernten relativ hoch, wobei sich ein deutlicher Unterschied zwischen markierten Aminosäuren und Hefevollpräparat ergibt, der sich in geringerem Ausmaß auch bei den zweiten Ernten zeigt. Letztere weisen bedeutend niedrigere Ausbeuten von 25 - 55% auf, da für die zweiten Hefekulturansätze dieselben Nährlösungen, die nach den ersten Ernten übrig geblieben waren, verwendet wurden und daher nährstoffärmer waren. Dementsprechend war auch das Aktivitätsangebot an ^{75}Se für die ersten Ansätze mit 4 - 5 Milliarden Impulsen pro Minute ungefähr doppelt so hoch wie für die zweiten Ansätze, denen nur 1,3 - 3 Milliarden Impulse pro Minute angeboten wurden. Die Inkubationszeiten für die verschiedenen ersten und zweiten Hefekulturansätze blieben ziemlich gleichmäßig.

Tabelle 1: Ergebnisse der ^{75}Se -Markierung von Hefeproteinen.

1. Ernte

Versuchs-Nr.	1	2	3	4	Einheit
Aktivitäts-angebot:	4.282	4.762	3.936	5.241	$\times 10^6 \text{ Imp/min.}$
Inkubationszeit:	22	21	24	23	Std.
gewonnenes Material:	Aminos.	sterilisiertes Hefeprotein			
Ausbeute an markiertem Material:	40,14	64,47	70,60	61,34	in % des Aktivitäts-angebotes

2. Ernte

Versuchs-Nr.	1	2	3	4	5	Einheit
Aktivitäts-angebot:	1.989	1.730	1.531	1.308	3.065	$\times 10^6 \text{ Imp/min}$
Inkubationszeit:	20	27	25	25	24	Std.
gewonnenes Material:	Aminosäuren	sterilisiertes Protein				
Ausbeute an markiertem Material:	25,14	24,57	30,21	55,70	37,25	in % des Aktivitäts-angebotes

Tabelle II: Ergebnisse der ^{75}Se -Markierung der Serumproteine:

No.	Zufuhr-Material	Zufuhrweg	Gesamtangebot pro Kg in Mill Imp/min	max. Ausbeute an spez. Akt. der Serumproteine in % des Angebotes	Max. an spez. Aktivität in Imp/min/mg Serumprotein	Ausscheidung im Urin in % des Angebotes bis zum 3. Tag nach letzter Zufuhr
1	Aminos.	i.p.+s.c. in 1 Frakt.	500	0,000523	2 614	—
2	Aminos.	i.p.+s.c. in 3 Frakt.	587	0,000577	3 386	9,31
3	Aminos. + ess. AS	i.p.+s.c. in 3 Frakt.	413	0,001030	4 254	10,64
4	pasteur. Proteine	i.p. in 1 Frakt.	3.070	0,000360	11 057	23,59
5	pasteur. Proteine	i.p. in 3 Frakt.	3.242	0,000180	5 823	30,96
6	pasteur. Proteine	s.c. in 4 Frakt.	2.741	0,000448	12 278	22,33
7	autokl. Proteine	s.c. in 4 Frakt.	3.933	0,000325	12 785	21,82
8	autokl. Proteine	s.c. in 4 Frakt.	2.255	0,000261	5 892	12,86 ⁺
9	autokl. Proteine	per os in 1 Frakt.	923	0,000938	8 655	36,46
10	autokl. Proteine	per os in 1 Frakt.	291	0,001440	4 187	27,84

⁺Summe der im Urin ausgeschiedenen Aktivität bis zum 2. Tag nach der letzten Zufuhr des markierten Materials.

2.) Einbau des markierten Materials in den Kaninchen-organismus:

a) in die Serumproteine:

In Tabelle II sind die Ergebnisse zusammengefaßt, die bei den 10 verschiedenen Markierungsversuchen der Serumproteine erhalten wurden. Zum Vergleich wurden die verschiedenen Formen des zugeführten Materials, die pro Kg Körpergewicht angebotenen Aktivitätsmengen und die verschiedenen Zufuhrwege hinzugefügt. Die spezifische Aktivität der Serumproteine erreichte, wie die Tabelle zeigt, sehr unterschiedliche Maximalwerte, die zwischen 2600 und 12800 Imp/min/mg Serumprotein liegen und am 2. - 4. Tag erreicht wurden (siehe S.24). Die maximale Ausbeute an spezifischer Aktivität, ausgedrückt in Prozent des Gesamtaktivitätsangebotes, war zwar stets niedrig, zeigte aber bei den verschiedenen Versuchen deutliche Unterschiede. Eine ausführliche Beschreibung und Deutung dieser Ergebnisse erfolgt im Rahmen der Diskussion.

b) in die Organe:

Die ^{75}Se -Aktivität von verschiedenen Organen wurde, wie oben beschrieben, bei 5 Kaninchen, denen pasteurisiertes oder autoklaviertes markiertes Hefeprotein subcutan, intraperitoneal oder per oral zugeführt worden war, nach verschiedenen Zeitabständen gemessen. In Tabelle III sind die errechneten spezifischen Aktivitäten der Organe in Imp/min/mg

Tabelle III: Spezifische Aktivitäten der Organe in Imp/min/mg
Trockengewicht:

Organ	1	2	3	4	5
	am 2. Tag nach s.c. Zufuhr in 4 Frakt.	am 3. Tag nach s.c. Zufuhr in 4 Frakt.	am 4. Tag nach i.p. Zufuhr in 3 Frakt.	am 11. Tag nach s.c. Zufuhr in 4 Frakt.	am 12. Tag nach p.o. Zufuhr in 1 Fraktion
Leber	3 307	8 538	3 963	13 482	1 837
Niere	11 306	18 023	8 855	14 372	2 679
Lunge	2 616	3 846	1 484	2 561	596
Milz	2 538	3 407	2 528	3 600	602
Dünndarm	2 066	2 557	2 109	3 009	576
Pankreas	1 682	2 801	1 295	2 175	162
Knochen- mark	1 791	1 731	599	1 971	73
Myocard	1 355	2 890	1 224	3 055	500
Skelett- muskul.	264	520	274	1 136	266
Serum- proteine ⁺	5 188	10 369	4 628	5 879	1 674
Thymus	2 884	--	--	4 092	285
Ovar	1 867	--	1 980	--	--
Testes	--	--	--	--	879
Großhirn	--	--	741	--	--
Kleinhirn	--	--	760	--	--
Gesamtakti- angebot	2.225	2.741	3.242	3.933	1.291 Milli- arden Imp

⁺Dabei handelt es sich nicht um Imp/min/mg Trockengewicht Serumprotein, sondern um die spezifische Aktivität der Serumproteine, die aus der Gesamtaktivität des abzentrifugierten Serums berechnet wurde.

Tabelle IV: Prozentuale Verteilung der spezifischen Aktivitäten auf die verschiedenen Organe, die folgendermaßen berechnet wurde:

Die in Tabelle III angegebenen spezifischen Aktivitäten der Organe, die bei allen Tieren bestimmt worden waren, wurden summiert, die Summe gleich 100% gesetzt und die spezifischen Aktivitäten der ausgewählten Organe in Prozent umgerechnet.

Messung	am 2. Tag nach s.c. Zufuhr in 4 Frakt.	am 3. Tag nach s.c. Zufuhr in 4 Frakt.	am 4. Tag nach i.p. Zufuhr in 3 Frakt.	am 11. Tag nach s.c. Zufuhr in 4 Frakt.	am 12. Tag nach p.o. Zufuhr in 1 Fraktion
Leber	10,3	15,6	14,7	26,3	20,5
Niere	35,2	33,0	32,9	28,1	29,9
Lunge	8,2	7,0	5,5	5,0	6,7
Milz	7,9	6,2	9,4	7,0	6,7
Dünndarm	6,4	4,7	7,8	5,9	6,4
Pankreas	5,2	5,1	4,8	4,2	1,8
Knochen- mark	5,6	3,2	2,2	3,9	0,8
Myocard	4,2	5,3	4,5	6,0	5,6
Skelett- muskul.	0,8	1,0	1,0	2,2	3,0
Serum- proteine ⁺	16,2	19,0	17,2	11,5	18,7
Gesamtakt. angebot	2.225	2.741	3.242	3.933	.291 Milli- arden Imp.

⁺Der prozentuale Anteil der spezifischen Aktivität der Serumproteine wurde nicht aus der spezifischen Aktivität des Trockengewichtes berechnet, sondern aus der spezifischen Aktivität der Serumproteine im abzentrifugierten Serum.

Trockengewicht angegeben. Das Aktivitätsniveau der Organe hängt bei den verschiedenen Versuchen vornehmlich von dem Gesamtaktivitätsangebot an das betreffende Tier ab. Da dieses unterschiedlich war, können die verschiedenen Organaktivitäten in dieser Form nicht untereinander in Abhängigkeit von der Zeit verglichen werden. Benutzt man aber die Werte dieser Tabelle, um die in Tabelle IV angegebenen prozentualen Organaktivitäten zu errechnen, so erhält man folgende Ergebnisse:

Der prozentuale Anteil der spezifischen Aktivität der Niere liegt bei allen Versuchen höher als in den anderen Organen, fällt aber von dem maximalen Wert von 35% am 2. Tag nach der letzten Zufuhr des markierten Materials ständig ab, um am 11. bzw. 12. Tag mit 28 - 30% die relativ niedrigsten Werte zu erreichen. Ähnlich ist die Situation bei der Lunge. Umgekehrte Verhältnisse finden sich in der Leber, die die zweithöchsten Werte an Organaktivität zeigt. Kurze Zeit nach der Zufuhr des markierten Materials liegt der prozentuale Anteil der spezifischen Aktivität dieses Organs mit 10% im Vergleich zur Niere auffällig niedrig, steigt dann aber mit der Zeit stark an und erreicht am 11. - 12. Tag mit 20 - 26% mehr als doppelt so hohe Werte wie am 2. Tag und liegt damit nur wenig niedriger als die Niere zu diesem Zeitpunkt. Ähnliche Verhältnisse, wenn auch in viel kleinerem Maßstab, liegen in der quergestreiften Muskulatur vor, die mit 1 - 3%

die geringsten spezifischen Aktivitäten von allen untersuchten Organen aufweist. Ebenso wie die Skelettmuskulatur zeigt auch die Herzmuskulatur eine in Abhängigkeit von der Zeit ansteigende Tendenz des prozentualen Anteils an Organaktivität. Die Aktivitäten von Milz, Dünndarmwand und Pankreas, die beim Vergleich untereinander in der gleichen Größenordnung, aber bedeutend niedriger als die der Leber liegen, zeigen keine mit der Zeit ab- oder ansteigende Tendenz. Das Knochenmark weist nur sehr geringe Werte auf. Die nur bei einigen Tieren durchgeführten Aktivitätsmessungen der restlichen Organe zeigen keine Besonderheiten. Die spezifischen Aktivitäten von Groß- und Kleinhirn liegen erwartungsgemäß niedrig, von Thymus, Ovar und Testis in der gleichen Höhe wie Milz, Dünndarm und Pankreas.

3.) Aktivitätsausscheidung im Urin:

Bei den oben beschriebenen Versuchen wurde die 24-Stunden-Ausscheidung des in organischer Form zugeführten ^{75}Se im Urin gemessen. Die maximale Selenexkretion fand sich bei allen neun untersuchten Kaninchen stets während der ersten 24 Stunden nach der letzten Injektion des markierten Materials, um an den folgenden Tagen steil abzusinken, wobei die täglichen Schwankungen allerdings sehr groß waren. Abbildung I (durchgezogener Streckenzug) zeigt ein entsprechendes Beispiel. In Tabelle II ist die Aktivitätsmenge, die vom Tag

der ersten Zufuhr bis zum dritten Tag nach der letzten Zufuhr des markierten Materials im Urin ausgeschieden wurde, in Prozent des Gesamtaktivitätsangebotes angegeben. Es zeigt sich, daß bei den verschiedenen Versuchen mit 9 - 36% verschieden große Mengen des injizierten ^{75}Se im Urin ausgeschieden wurden. Die auffallend niedrige Ausscheidung beim Versuchstier No. 8 erklärt sich dadurch, daß in diesem Falle nur die Summe der ausgeschiedenen Aktivität vom ersten Zufuhrtag bis zum zweiten Tag nach der letzten Zufuhr des markierten Materials gemessen werden konnte.

B. Spezielle Untersuchungen mit ^{75}Se -markierten Serumproteinen:

1.) Die biologische Halbwertszeit des Gesamtproteins im Serum:

Bei den Untersuchungsreihen, die an 4 verschiedenen Kaninchen 40 - 50 Tage lang durchgeführt wurden, erhält man in halblogarithmischer Darstellung der spezifischen Aktivität der Serumproteine in Abhängigkeit von der Zeit fast identische Kurven, von denen eine in Abbildung II wiedergegeben ist. Der Gehalt an freiem ^{75}Se /ml Serum betrug nur in den ersten 2 - 5 Tagen nach der letzten Zufuhr des markierten Materials über 1% der Gesamtaktivität/ml Serum, überschritt aber in keinem Fall 7% und fiel in den folgenden Tagen sehr schnell unter 1%. Deshalb wurde das freie Selen nur in den ersten 5 - 9 Tagen bei der Berechnung der spezifischen Aktivität der Serumproteine berücksichtigt und später vernachlässigt, da bei den geringen Aktivitätsmengen meßtechnische Fehler nicht auszuschließen waren. Der Gesamteiweißgehalt zeigte während der Versuchsdauer Schwankungen bis $\pm 0,625\%$, ohne eine ab- oder zunehmende Tendenz aufzuweisen.

Die spezifische Aktivität der Serumproteine stieg zunächst rasch an, um am 2.- 4. Tag nach der letzten Injektion ein Maximum zu erreichen, das ca. 24 Stunden lang in Form eines Plateaus erhalten blieb. Dann folgte ein steiler Abfall von 2 - 5 Tagen Dauer, der schließlich in einen fast exponentialen

flacheren Abfall übergang. Wenn man annimmt, daß der langsame lineare Abfall dadurch zustande kommt, daß markierte Proteinmoleküle abgebaut und durch unmarkierte Moleküle ersetzt werden, kann man, da sich die Gesamtproteinkonzentration während dieser Zeit nicht entscheidend änderte, aus diesem Teil der Kurve die biologische Halbwertszeit der Gesamtproteine bestimmen und erhält Werte von 14 - 16 Tagen.

2.) Verteilung der spezifischen Aktivität in den Serumproteinfraktionen:

Nach der Vertikalelektrophorese des ^{75}Se -markierten Kaninchenserums und der Bestimmung der spezifischen Aktivität in den gewonnenen Proteinfraktionen findet sich der überwiegende Teil der Aktivität in den mittleren Fraktionen, die erfahrungsgemäß den α - und β -Globulinen zuzuordnen sind, während die äußeren Fraktionen, die überwiegend Albumine bzw. γ -Globuline enthalten, nur geringe spezifische Aktivitäten aufweisen, wobei aber die γ -Globuline reicher an Aktivität sind als die Albumine. In Abbildung III sind die spezifischen Aktivitäten, die am 4. Tag nach der intraperitonealen und am 11. Tag nach der subcutanen Injektion von ^{75}Se -Hefeproteinen in den vertikalelektrophoretisch getrennten Fraktionen der Serumproteine gefunden wurden, graphisch dargestellt. Dasselbe Ergebnis und fast identische Kurven erhält man am 2. und 3. Tag nach der subcutanen und am 3. und 12. Tag nach

Tabelle V: Die Verteilung der spezifischen Aktivität in den Serumprotein-Fraktionen:

Versuch No.	Messung am Tag nach der letzten Injektion	Zufuhrweg des markierten Materials	Zahl der nach der Vertik.Elektrophorese erhaltenen Fraktionen	Gipfel der spezifischen Aktivität in Fraktion No.
1	2. Tag	subcutan	14	6
2a ⁺	3. Tag	subcutan	21	10
2b ⁺	3. Tag	subcutan	16	6
3	3. Tag	per oral	23	9
4	4. Tag	intraperitoneal	21	8
5	11. Tag	subcutan	21	9
6	12. Tag	per oral	18	8

*Das gewonnene Blutserum des 2. Versuchstieres wurde in zwei Hälften geteilt und zur Kontrolle getrennte Vertikalelektrophoresen und Aktivitätsmessungen durchgeführt.

der per oralen Zufuhr von markierten Hefeproteinen. An Hand der Tabelle V, in der die Ergebnisse der 6 Untersuchungen zusammengefaßt sind, erkennt man, daß der Gipfel der spezifischen Aktivität unter Berücksichtigung der vertikal-elektrophoretischen Auftrennung in verschieden viele Fraktionen stets an fast derselben Stelle zu finden ist, die ebenfalls den α - oder β -Globulinen zuzuordnen ist.

3.) Die normale Zusammensetzung des Plasmaproteinfilmes an der Oberfläche von Kaninchenerythrocyten:

Bei den zwei nach methodischen Angaben der Literatur durchgeführten Untersuchungen über die Zusammensetzung des Plasmaproteinfilmes an der Erythrocytenoberfläche wurden ähnliche Ergebnisse erhalten. Allerdings gestattet das gewonnene Untersuchungsergebnis keine sicheren Aussagen, da die eingesetzten Impulsmengen für den Gesamtversuch, insbesondere im Albuminbereich, zu gering waren, so daß meßtechnische Fehler nicht auszuschließen waren. Die beim zweiten Versuch erhaltenen Werte sind in Abbildung IV dargestellt. Dabei gibt der ausgezogene Streckenzug die prozentuale Verteilung der Proteine im Plasmaproteinfilm (P_E) wieder, der gepunktete Streckenzug den prozentualen Eiweißgehalt der einzelnen Proteinfractionen (in Prozent der Summe des Eiweißgehaltes aller Fraktionen) und der gestrichelte Streckenzug die prozentuale Verteilung der Proteine im Plasma, wie sie nach der Papier-

elektrophorese erhalten wurde. Die Abbildung zeigt unter Berücksichtigung der gemachten Einschränkung, daß sich die prozentuale Zusammensetzung der Proteine im Plasmaprotein-film an der Erythrocytenoberfläche wesentlich von der Zusammensetzung dieser Proteine im Plasma unterscheidet, was auf eine unterschiedliche Adsorptionsneigung der Proteine zur Erythrocytenoberfläche zurückgeführt wird.

IV. Diskussion

A. Proteinmarkierung mit ^{75}Se in vivo:

1.) Die spezifische Aktivität der Serumproteine:

Das erste Hauptziel dieser Arbeit bestand darin, möglichst hohe Aktivitäten bei der Markierung der Serumproteine des Kaninchens zu erreichen. Zu diesem Zweck muß zunächst eine befriedigende Ausbeute an markierten Aminosäuren oder Proteinen aus den verschiedenen Hefekulturen erzielt werden:

a) Wovon hängt die Ausbeute an markiertem Material aus den Hefekulturen ab?

Das unterschiedliche Gesamtaktivitätsangebot läßt, wie Tabelle I zeigt, keine Beeinflussung der Utilisation erkennen, und auch die wenig differierenden Inkubationszeiten hatten wahrscheinlich innerhalb dieser Grenzen nur einen geringen Einfluß auf die Ausnutzung, wobei es ungewiß ist, ob sich diese mit längerer Inkubationszeit erhöht oder, was wahrscheinlicher ist, wieder verringert, denn der Einbau von ^{75}Se in das Hefeprotein kommt nach 24 Stunden, wie Monte Blau⁴⁾ zeigte, zum Stillstand. Hauptsächlich ist die Ausbeute an markiertem Material von den verschiedenen Aufarbeitungsmethoden des geernteten Hefeproteins abhängig, denn bei der komplizierten und langwierigen Hydrolyse des Proteins und der anschließenden HCl-Verdampfung geht ein großer Teil des in

das Protein eingebauten ^{75}Se wieder verloren, so daß die Ausbeute an ^{75}Se -markierten Aminosäuren bedeutend geringer ist als an sterilisiertem markiertem Hefeprotein, das der weitaus einfacheren und kürzeren Pasteurisation oder Autoklavierung unterworfen wurde.

Das Resultat von Monte Blau⁴⁾, der eine Ausbeute an Selenocystin und Selenomethionin von 20 - 40% des Aktivitätsangebotes erzielte, wurde zum Teil reproduziert, zum Teil wurden höhere Erträge erreicht, was ebenfalls auf den Verlust an markiertem Material bei der Hydrolyse und Reindarstellung der ^{75}Se -markierten Aminosäuren zurückzuführen ist.

b) Wovon hängt die Höhe der spezifischen Aktivität der Serumproteine ab?

Die maximalen spezifischen Aktivitäten der Serumproteine sind, wie Tabelle II, Seite 17, zeigt, hauptsächlich von der Menge der angebotenen Gesamtaktivität abhängig, und zwar nehmen sie mit steigendem Aktivitätsangebot zunächst schnell, dann aber langsamer zu. Dadurch werden die sich verschlechternden Ausbeuten erklärt, die bei einem Gesamtaktivitätsangebot von weniger als 1 Milliarden Imp/min mit 0,001% bedeutend höher liegen als bei einem Angebot von mehr als 3 Milliarden Imp/min, wobei die Ausbeute nur 0,0003% beträgt. Der Zufuhrweg hat dagegen einen geringeren Einfluß auf die Höhe der spezifischen Aktivität. Allerdings führt die per orale Zufuhr unter Berücksichtigung des geringeren Aktivitätsange-

botes zu relativ höheren spezifischen Aktivitäten als die parenterale, wobei die subcutane und subcutan-intraperitoneal kombinierte Injektion günstiger zu bewerten ist als die alleinige intraperitoneale Zufuhr. Folglich ist die Ausnutzung bei per oraler Zufuhr auch besser als bei parenteraler. Die verzögerte Injektion in 3 - 4 Fraktionen unabhängig vom Zufuhrweg scheint nur eine geringe Erhöhung von spezifischer Aktivität und Ausbeute zu bewirken. Schließlich muß noch berücksichtigt werden, ob den Tieren ^{75}Se -markierte Aminosäuren oder sterilisierte Hefeproteine angeboten wurden. Wenn man die Beeinflussung der Höhe der spezifischen Aktivität und damit auch der Ausbeute durch die Menge der angebotenen Gesamtaktivität berücksichtigt, so erkennt man, daß bei Injektion von ^{75}Se -markierten Aminosäuren relativ höhere spezifische Aktivitäten erreicht werden und bessere Utilisationen stattgefunden haben als bei Injektion von pasteurisiertem oder autoklaviertem ^{75}Se -Hefeprotein. Besonders günstige Werte erhält man durch Zusatz der essentiellen Aminosäuren (außer Methionin) zu dem markierten Aminosäuregemisch.

Um möglichst hohe spezifische Aktivitäten der Serumproteine zu erreichen, scheint daher die per orale oder subcutane Zufuhr von hohen Aktivitätsmengen in Form von pasteurisiertem oder autoklaviertem Hefeprotein trotz geringerer Ausnutzung am vorteilhaftesten zu sein. Die Zufuhr von ^{75}Se -markierten

Aminosäuren ist unzweckmäßig, da bei der hydrolytischen Darstellung große Mengen verloren gehen, während die Sterilisation des Hefevollpräparates viel weniger aufwendig ist und zu höheren Aktivitätsmengen führt.

Allerdings liegen die spezifischen Aktivitäten der Serumproteine, die mit der beschriebenen Versuchsmethode erzielt wurden, stets ziemlich niedrig. Daher eignet sich die Proteinmarkierung mit ^{75}Se -markierten Aminosäuren nur für Untersuchungen, bei denen geringe Aktivitätsmengen benötigt werden.

Da bisher keine Arbeiten über die Markierung der Plasmaproteine mit organisch gebundenem ^{75}Se beschrieben wurden, ist ein Vergleich mit den Ergebnissen anderer Autoren nicht möglich. Es liegen lediglich einige Berichte über Versuche mit Selen vor, das in anorganischer Form verschiedenen Tieren zugeführt wurde. Dabei zeigte sich, daß Selen in einer ziemlich festen Bindung in oder an den Bluteiweißkörpern fixiert ³⁸⁾⁴⁴⁾⁴⁶⁾⁴⁷⁾⁸⁴⁾ bzw. ein Protein-Selen-Komplex gebildet ⁷²⁾⁸⁶⁾ wird. Es ist jedoch unbekannt, ob das zugeführte Selen nur adsorbiert wird oder in den Proteinen in organischer Form gebunden wird, etwa in dem Sinne, daß der Aminosäureschwefel durch Selen ersetzt wird, wie von McConnell ⁴⁶⁾ angenommen wird. Da es sich bei den Thioaminosäuren Methionin und Cystin jedoch um essentielle Aminosäuren handelt, kann ein sicherer Einbau von Selen an Stelle des Schwefels in die Serumproteine

zweifelloos nur durch die Zufuhr der ^{75}Se -markierten Aminosäuren in freier oder gebundener Form erreicht werden, wie es in der vorliegenden Arbeit geschehen ist.

2.) Die spezifische Aktivität der Organproteine:

Die spezifischen Aktivitäten der Organe zeigen, wie auf Seite 18 beschrieben, untereinander und in Abhängigkeit von der Zeit deutliche Unterschiede. Eine Deutung der erhaltenen Werte ist außerordentlich schwierig, da sich die sogenannte spezifische Aktivität der Organe sicherlich aus einer Vielzahl von Faktoren zusammensetzt: Es handelt sich dabei nicht nur um die spezifische Aktivität der Organproteine, die bei der Proteinsynthese durch ^{75}Se -Thioaminosäuren aus dem Aminosäurepool oder vielleicht sogar durch den Einbau von markierten Albuminmolekülen als Ganzes oder in Bruchstücken (Polypeptide⁹⁰⁾) markiert worden sind. Auch andere organische Substanzen, wie z.B. Mucopolysaccharide, werden mit ^{75}Se markiert. Möglicherweise wird das im Stoffwechsel entstandene anorganische ^{75}Se an die Organproteine⁴⁴⁾⁴⁵⁾⁷²⁾⁸⁶⁾ gebunden oder ersetzt sogar den Schwefel in den Thioaminosäuren⁴⁶⁾. Diese Vermutung äußern mehrere Autoren, die nach Zufuhr von anorganischem Selen einen Protein-Selen-Komplex⁴⁴⁾⁷²⁾ in den Geweben fanden oder ^{75}Se -Selenomethionin und -cystin⁴⁸⁾ aus Leberhydrolysaten chromatographisch isolierten. Außerdem kann das anorganische Selen in bestimmten Organen⁴⁴⁾

gespeichert werden oder dort speziellen Funktionen dienen, die ihm als Spurenelement⁷³⁾ und Vitamin-E-aktiver Faktor 3 9)16)17)30)40)69) von mehreren Autoren zugeschrieben werden. Überlagert werden diese Faktoren in den Ausscheidungsorganen noch durch die Menge des auszuscheidenden Selens. Unter Berücksichtigung dieser Faktoren, die bei allen Organen außer den Ausscheidungsorganen Niere und Lunge im gleichen Ausmaß ins Gewicht fallen, dürften jedoch Höhe und prozentualer Anteil der Organaktivitäten in den ersten Tagen nach Zufuhr des markierten Materials ein relatives Maß für die Einbaurrate und damit den Proteinumsatz und die Halbwertszeit der Organproteine darstellen. Dabei muß man beachten, daß die Halbwertszeiten nicht nur bei den verschiedenen Organen, sondern auch innerhalb eines Organs unterschiedlich sind, denn die Proteine des Parenchyms haben eine kürzere Lebensdauer als die des Stromas⁷⁰⁾, so daß die Halbwertszeiten der Organproteine ein Gemisch der Halbwertszeiten von Parenchym- und Stromaproteinen darstellen. Grundsätzlich haben die Körperproteine mit ca. 20 Tagen eine längere Halbwertszeit⁵⁸⁾ als die Bluteiweißkörper. Dies kommt darin zum Ausdruck, daß die Organaktivitäten in den ersten vier Tagen stets niedriger liegen als die spezifischen Aktivitäten der Serumproteine, denn auf Grund ihres langsameren Proteinumsatzes bauen die Organproteine pro Zeiteinheit weniger markierte Aminosäuren ein als die Bluteiweißkörper. Wenn man die Höhe der Organ-

aktivitäten in Anlehnung an Schoenheimer und Mitarbeiter²⁸⁾ als Maß für die Regenerationsrate der Körperproteine nimmt, so hat die Leber den schnellsten Proteinumsatz. Es folgen in abfallender Reihe Milz, Dünndarmwand, Pankreas, Herz, Knochenmark und Skelettmuskulatur. Eine Einstufung von Niere und Lunge kann auf Grund ihrer Funktion bei der Selenausscheidung nicht erfolgen. Yuile und Mitarbeiter⁹⁰⁾ schlossen ebenfalls nach Infusion von ^{14}C -markiertem Serumeiweiß bei Hunden aus den in den Organen gefundenen ^{14}C -Konzentrationen auf die Stoffwechselintensitäten der Organe und kamen zu einer ähnlich abfallenden Reihe. Weitere Autoren¹³⁾²³⁾³⁵⁾⁵⁰⁾⁶³⁾⁶⁴⁾⁷¹⁾⁷²⁾, die allerdings stets anorganisches Selen intravenös, intrapericardial, subcutan oder per oral zugeführt haben, fanden ebenfalls höchste ^{75}Se -Retention in Niere und Leber, geringere Mengen in Lunge, Herz, Milz und Pankreas und sehr niedrige Aktivitäten in Skelettmuskulatur, Knochen und Gehirn. Diese Ergebnisse gewinnen dadurch an Bedeutung, daß mehrere Autoren³⁸⁾⁴⁴⁾⁴⁶⁾⁴⁷⁾⁸⁴⁾⁸⁶⁾, wie oben bereits ausführlich berichtet, eine Bindung des in anorganischer Form zugeführten Selen an die Proteine in organischer Form deklarieren.

Am 11. und 12. Tag p.i. zeigten die Organaktivitäten dagegen bei unseren Versuchen im Vergleich zu den Serumproteinaktivitäten einen Anstieg (siehe Tabelle IV, Seite 20), der damit zu erklären ist, daß die spezifische Aktivität der Gesamtschutzserumproteine auf Grund der kürzeren Halbwertszeit viel

schneller abfällt als die Organaktivitäten und zu diesem Zeitpunkt fast die Hälfte der markierten Bluteiweißkörper bereits wieder abgebaut ist. Der im Vergleich mit den übrigen Organproteinen und den Serumproteinen besonders starke Anstieg der spezifischen Leberaktivität in Abhängigkeit von der Zeit muß dahingehend interpretiert werden, daß die Leber im "Selenmetabolismus" eine zentrale Stellung einnimmt und anorganisches oder organisches Selen retiniert und speichert, was durch die erwähnten Ergebnisse anderer Autoren bestätigt wird. Eine ähnliche Selenretention findet in der Herz- und Skelettmuskulatur statt.

Die hohe spezifische Aktivität der Niere ist als Folge der ^{75}Se -Ausscheidung durch dieses Organ anzusehen und weniger durch eine spezifische Proteinsynthese bedingt. Andere Autoren (14) (35) (50) (63) (64) (71) (72), die anorganisches ^{75}Se verschiedenen Tieren intravenös, subcutan oder per oral zugeführt haben, kommen zu dem gleichen Ergebnis. Der Abfall der spezifischen Aktivität der Niere in Abhängigkeit von der Zeit erklärt sich aus der mit der Zeit abnehmenden Selenausscheidung. Ähnliche Verhältnisse finden sich in der Lunge⁸²⁾, die als Ausscheidungsorgan für flüchtige Selenverbindungen wie SeO_2 fungiert. Die geringen Aktivitätswerte im Knochenmark sind vermutlich ein Ausdruck dafür, daß das Selen weder in anorganischer noch in organischer Form vermehrt in die Erythrocyten bzw. deren Hämoglobin eingebaut wird. Der von mehreren Autoren^{7) (33)}

38)43)50)85) berichtete Einbau von Selen in die Erythrocyten muß daher als Adsorptions- oder Diffusionsphänomen des in anorganischer Form zugeführten Selens gedeutet werden. Wright und Bell⁸⁸⁾ vermuten einen aktiven sauerstoffabhängigen Transportmechanismus des ⁷⁵Se als Selenit in die Erythrocyten.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß Niere und in geringerer Ausmaß auch die Lunge infolge der Selenausscheidung hohe Organaktivitäten zeigen, während die übrigen inneren Organe in charakteristischer Reihenfolge mit der Leber an der Spitze entsprechend ihrer verschiedenen Stoffwechselintensitäten und zunehmenden Proteinhalbwertszeiten abfallende spezifische Aktivitäten aufweisen. Aus der Aktivitätszunahme in Abhängigkeit von der Zeit, besonders in der Leber, muß auf eine spezielle Aufgabe, vermutlich Selenspeicherung, dieses Organs im "Selenstoffwechsel" geschlossen werden.

3.) Aktivitätsausscheidung im Urin:

Mehrere Autoren¹⁴⁾²⁶⁾²⁹⁾³⁵⁾⁴¹⁾⁵⁰⁾⁶⁴⁾⁶⁶⁾⁷¹⁾⁷²⁾⁸²⁾ haben nachgewiesen, daß der weitaus größte Teil (bis zu 80%) des Selens, das verschiedenen Mammaliern in organischer Form zugeführt wurde, über die Nieren ausgeschieden wird, geringere Mengen dagegen über Galle und Darm und in flüchtiger Form auch über die Lunge.

Bei den oben beschriebenen Versuchen wurde daher nur die

24-Stundenausscheidung des zugeführten ^{75}Se im Urin gemessen. Die großen Unterschiede in der täglichen Selenausscheidung müssen neben Schwankungen in der Nierenfunktion vornehmlich auf eine unvollständige Blasenentleerung zurückgeführt werden. Um diesen Faktor auszuschließen, wurde in Anlehnung an McFarlane und Mitarbeiter⁵³⁾, die die ^{131}Jod -Exkretion nach Zufuhr von ^{131}J -markierten Plasmaproteinen untersucht haben, durch Summation der 72-Stundenausscheidung des ^{75}Se errechnet und in Abbildung I als gestrichelter Streckenzug dargestellt. Dabei wird deutlich, daß die Selenausscheidung in den ersten drei Tagen sehr hoch ist, dann aber steil absinkt auf ein viel niedrigeres Niveau, das an den folgenden 9 - 12 Meßtagen in fast gleicher Höhe erhalten bleibt. Blincoc⁵⁾ kam nach intraperitonealer Injektion von ^{75}Se bei Ratten zu einem ähnlichen Ergebnis und vermutet, daß das Selen von einer rasch ausgeschiedenen Form in eine langsamer ausgeschiedene überführt wird.

In Tabelle VI sind die Werte zusammengefaßt, die andere Autoren für die Selenausscheidung im Urin in Prozent des Gesamtangebotes nach Zufuhr von anorganischem Selen erhielten. Um die hier erhaltenen Ergebnisse der Ausscheidung nach Zufuhr von organisch gebundenem Selen damit vergleichen zu können, wurde die ^{75}Se -Aktivitätsmenge, die vom Tag der 1. Zufuhr bis zum 3. Tag nach der letzten Zufuhr des markierten Materials ausgeschieden wurde, summiert und in Prozent des

Gesamtaktivitätsangebotes in derselben Tabelle wiedergegeben. Die erhaltenen Werte liegen, absolut gesehen, zwar ziemlich hoch, verglichen mit den Ergebnissen anderer Autoren, aber relativ niedrig, was vermutlich darauf zurückzuführen ist, daß von den anderen Autoren anorganisches Selen, bei den eigenen Versuchen aber organisch gebundenes Selen verwendet wurde.

Die beschriebenen Unterschiede in der Höhe der Ausscheidung bei den verschiedenen Versuchen (siehe Tabelle II, Seite 17) müssen neben den individuellen Unterschieden und dem unterschiedlichen Aktivitätsangebot hauptsächlich auf die verschiedenen Aufarbeitungsmethoden und Zufuhrwege des markierten Hefeproteins zurückgeführt werden, und zwar ist die Ausscheidung bei intraperitonealer und per oraler Zufuhr höher als bei subcutaner Injektion, obwohl die Ausnutzung bei per oraler Zufuhr besser als bei parenteraler ist — ein auffälliger Befund, der nicht ohne weiteres zu erklären ist.

Die Tatsache, daß die Exkretion bei Angebot von markierten Hefeproteinen höher als bei Injektion von ^{75}Se -Aminosäuren ist, weist darauf hin, daß der Organismus die markierten Aminosäuren besser ausnutzen kann als die markierten Proteine, was durch die gute Ausbeute an spezifischer Aktivität nach Zufuhr der ^{75}Se -Aminosäuren bestätigt wird.

Allgemein kann man jedoch sagen, daß organisch gebundenes Selen nicht so schnell ausgeschieden wird wie anorganisches

Selen, ein Ergebnis, das von M.I. Smith und Mitarbeitern⁷² bestätigt wird.

Tabelle VI: ⁷⁵Se-Ausscheidung im Urin:

Autor	Tierart	Zufuhrweg und zugeführtes Material	Ausgeschiedene Menge in % des Gesamtangebotes	Dauer der Urinsamm- lung in Stund
McConnell ⁴¹⁾	Hund	i.p. als Na-Selenat	44 - 62%	4 h
Heinrich ²⁹⁾	Maus	s.c. als Na-Selenit	65,5%	48 h
Miura ⁵⁰⁾	Ratte u. Kaninchen	i.v. als Na-Selenit	35 - 45%	48 h
Lipiński ³⁵⁾	Ratte	s.c. als ⁷⁵ SeO ₂	50%	72 h
Eigene Versuche	Kaninchen	i.p.+s.c. als ⁷⁵ Se- mark. Aminosäuren	9 - 10%	120 h
Eigene Versuche	Kaninchen	i.p., s.c. oder p.o. als ⁷⁵ Se-Hefeprotein	20 - 36%	72-144 h

B. Spezielle Untersuchungen mit ^{75}Se -markierten Serumproteinen

1.) Die biologische Halbwertszeit des Gesamtproteins im Serum:

Die Aktivität der markierten Serumproteine steigt, wie Abbildung II zeigt, zunächst bis zu einem kurz dauernden Maximum an, um dann 2 - 5 Tage lang relativ steil abzufallen und schließlich in einen exponentialen flacheren Abfall überzugehen, aus dem die biologische Halbwertszeit der Gesamtserumproteine mit 14 - 16 Tagen bestimmt wurde.

Der initiale rasche Abfall wird in Übereinstimmung mit anderen Autoren⁴⁹⁾⁵⁷⁾ damit erklärt, daß sich das markierte intravaskuläre Serumeiweiß mit dem zunächst nicht markierten, extravaskulären extrazellulären Eiweiß durchmischt. Es wird angenommen, daß dieser Diffusionsausgleich abgeschlossen ist, wenn der steil abfallende Teil der Kurve in den flacher abfallenden linearen Teil übergeht. In Tabelle VII sind die Ergebnisse zusammengefaßt, die andere Autoren nach per oraler, subcutaner oder intravenöser Zufuhr von radioaktiv markierten Aminosäuren oder homologen Plasmaproteinen erhielten. Sie stimmen mit der in eigenen Versuchen erzielten Gleichgewichtszeit von 2 - 5 Tagen gut überein. Dabei muß man berücksichtigen, daß die Zufuhr einen Einfluß auf diese Zeit hat, die zur Einstellung des Diffusionsgleichgewichtes zwischen

Tabelle VII: Die biologische Halowertszeit der Gesamtserumproteine des Kaninchens nach den Angaben anderer Autoren:

Autor	Methode	Bestimmungsmodus	Gleichgewichtszeit in Tagen	Biolog. HWZ
Keilhack ³²⁾	Agglutinationsversuche	--	--	3-4 Wochen
Schoenheimer ²⁷⁾	p.o. ¹⁵ N-Tyrosin oder Glycin	Ersatzrate des ¹⁵ N durch normalen N im Serumprotein	--	14 Tage
Niklas, ⁵⁸⁾ Maurer, Krause	p.o. ³⁵ S-Methionin	Ersatz der markierten Proteine durch unmarkierte	2 Tage	16 Tage
McFarlane ¹²⁾	s.c. ¹³¹ I-Plasmaproteine	Ersatz der markierten Proteine durch unmarkierte	5,4 Tage	8,5 Tage
McFarlane ¹²⁾	i.v. ¹³¹ I-Plasmaproteine	Ersatz der markierten Proteine durch unmarkierte	2,8 Tage	8,5 Tage
Niklas, ⁵⁸⁾ Maurer, Krause	i.v. ³⁵ S-Plasmaproteine	Ersatz der markierten Proteine durch unmarkierte	2 Tage	6-7 Tage
Niklas ⁵⁶⁾	i.v. oder p.o. ³⁵ S-Methionin	Ersatz der markierten Proteine durch unmarkierte	--	8 Tage
		Berechnung der Umsatzrate des Serumeiweißes	--	9 Tage
Eigene Versuche	i.p. oder s.c. ⁷⁵ Se-Aminosäuren oder Hefepoteine	Ersatz der markierten Proteine durch unmarkierte	2-5 Tage	14-16 Tage

intra- und extravaskulärem Serumeiweiß erforderlich ist. Denn bei intravenöser Zufuhr wird der Organismus mit markierten Plasmaproteinen überschwemmt, so daß der initiale Aktivitätsabfall durch den Diffusionsausgleich steiler ist als bei per oraler, subcutaner oder intraperitonealer Zufuhr, wobei die markierten Proteine erst langsam gebildet und in das Blut abgegeben werden, so daß sich das Gleichgewicht auch viel langsamer einstellt.

Grundsätzlich müssen zu der Methode, die biologische Halbwertszeit der Serumproteine an Hand der Aktivitätsabnahme von radioaktiv markierten Plasmaproteinen in Abhängigkeit von der Zeit zu bestimmen, aus zwei Gründen Bedenken geäußert werden:

a) Bei der Zufuhr von markierten Aminosäuren oder Fremdeiweißen werden nicht nur die Plasmaproteine markiert, sondern ein großer Teil der markierten Aminosäuren wird, wie auf Seite 33 beschrieben, auch in das Organeiweiß eingebaut, bei dessen Abbau im Sinne des dynamischen Gleichgewichtes wieder frei und zum Teil bei der Synthese von Plasmaproteinen benutzt. Daher kommt es ständig zu einer Neubildung von markierten Bluteiweißmolekülen, so daß die Werte, die für die biologische Halbwertszeit der Serumproteine aus ihren Aktivitätsabfallskurven erhalten werden, zu hoch sind. Dieser sich überlagernde Betrag muß sich mit der Zeit mehr und mehr bemerkbar machen, so daß die Kurven der spezifischen Aktivität der Serumproteine nach einiger Zeit immer flacher verlaufen,

wie sich auch bei den Kurven unserer Versuchreihen zeigte. Natürlich entstehen beim Abbau der markierten Plasmaproteine auch freie markierte Aminosäuren, die zum Teil wieder in die Bluteiweiße eingebaut werden. Der Betrag der dabei entstehenden spezifischen Aktivität ist jedoch, wie Niklas, Maurer und Krause⁵⁸⁾ rechnerisch nachgewiesen haben, so gering, daß er vernachlässigt werden kann. Daher kann man die Verfälschung der Halbwertszeit der Serumproteine infolge der Neubildung von markierten Bluteiweißkörpern durch Aminosäuren, die vom Abbau markierter Körpereiw eiße stammen, dadurch umgehen, daß man homologe markierte Serumproteine von artgleichen Spender-tieren intravenös infundiert. Dabei erhebt sich allerdings die Frage, ob diese nicht vom Empfängertier wie Fremdeiweiße behandelt werden. Die biologischen Halbwertszeiten der Gesamtserumproteine, die nach diesen zwei verschiedenen Methoden bestimmt wurden, weisen, wie Tabelle VII, Seite 42, zeigt, erhebliche Unterschiede auf, und die Tatsache, daß die Halbwertszeit nach per oral zugeführten markierten Aminosäuren mit 14 - 16 Tagen fast doppelt so lang ist wie nach intravenös injizierten homologen markierten Serumproteinen, vermag die Richtigkeit der oben ausgeführten Theorie zu stützen.

b) Bei beiden Methoden wird die Halbwertszeit durch die notwendigen häufigen Blutentnahmen verfälscht, denn es wird dadurch nicht nur die Proteinersatzrate verändert, sondern es werden dem Körper mit den Blutproben auch ständig markierte

Proteinmoleküle entzogen, die durch unmarkierte ersetzt werden müssen - ein Fehler, der von McFarlane¹²⁾ besonders berücksichtigt wurde.

Um diese zwei methodischen Fehler auszuschließen, schlägt Niklas⁵⁶⁾ eine methodisch einwandfreie Berechnung der Halbwertszeit der Gesamtserumproteine aus der momentanen Umsatzrate der Serumeiweiße vor, die nach intravenöser Injektion von ^{35}S -Methionin aus dem Vergleich der spezifischen ^{35}S -Aktivität des freien Methionins im Serum mit der spezifischen ^{35}S -Aktivität des im Serumeiweiß eingebauten ^{35}S -Methionins errechnet wird, und erhält eine biologische Halbwertszeit der Gesamtserumproteine des Kaninchens von ca. 9 Tagen. Dabei ist der Unterschied zu der nach konventionellem Bestimmungsmodus erhaltenen Halbwertszeit von 8 Tagen so gering, daß man die bisherigen Methoden trotz der gemachten Einwände für hinreichend zuverlässig erachten kann.

Zu den beiden oben erwähnten methodischen Fehlern bei der Bestimmung der Halbwertszeit kommen noch weitere Faktoren, die die Ursache der unterschiedlichen Ergebnisse bei den verschiedenen Autoren darstellen können:

Der Proteingehalt der Diät kann nach Steinbock und Tarver⁷⁴⁾ die Ersatzrate der Plasmaproteine und damit ihre Halbwertszeit in extremen Fällen um den Faktor 2 verändern. Auch Größe, Gewicht, Geschlecht, Alter der Tiere und der Zustand ihres Stoffwechsels beeinflussen die Halbwertszeit, so daß Untersuchungen

nur an erwachsenen Tieren, die sich lange Zeit im Stoffwechselgleichgewicht befinden, möglich sind. Dieser Faktor muß bei den hier durchgeführten Versuchen besonders erwähnt werden, da keine erwachsenen Tiere verwendet wurden.

Unter Berücksichtigung dieser Einwände kann man jedoch sagen, daß die hier erzielte Halbwertszeit der Gesamtserumproteine des Kaninchens mit 14 - 16 Tagen an der oberen Grenze der Norm liegt, wenn man sie mit den Ergebnissen anderer Autoren vergleicht, die nach anderen Versuchsmethoden und mit anderen Radioisotopen arbeiteten. Auch der Kurvenverlauf der ^{75}Se -Aktivitätsabnahme der Serumproteine stimmt mit deren Kurven überein. Daraus kann man schließen, daß sich die in vivo ^{75}Se -markierten Aminosäuren oder Hefeproteine zur Bestimmung der biologischen Halbwertszeit der Gesamtserumproteine prinzipiell eignen. Einschränkend ist allerdings zu bemerken, daß bei der parenteralen Verabreichung von Hefeproteinen vom Empfängerorganismus Antikörper gegen Hefe gebildet werden. Bei später wiederholter Hefeaufnahme müssen bei derart sensibilisierten Organismen allergische Reaktionen erwartet werden.

2.) Verteilung der spezifischen Aktivität in den Serumproteinfraktionen:

Wie ist das oben beschriebene Phänomen, daß die Hauptmenge des ^{75}Se in den α - und β -Globulinen erscheint, zu interpretieren? Am leichtesten könnte man es damit erklären, daß die

α - und β -Globuline besonders reich an Thioamino-säuren sind und folglich auch pro mg Protein mehr ^{75}Se -Selenomethionin und -cystin einbauen als die Albumine und γ -Globuline. Das ist jedoch nicht der Fall, denn, wie Brand und Mitarbeiter⁸⁹⁾ berichten, finden sich im Albumin 6,9, im α -Globulin 2,9, im β -Globulin 5,2 und im γ -Globulin 3,5 Cystin + Methionin, ausgedrückt in Prozent pro 100 g Eiweiß. Andere Autoren⁸⁹⁾ kommen zu ähnlichen Ergebnissen. Da sich die Anhäufung der Aktivität bereits nach 2 Tagen in den α - und β -Globulinen findet und nicht erst mit zunehmender Zeit erreicht wird, scheidet auch die Möglichkeit aus, daß sich die Thioamino-säuren und damit das ^{75}Se mit der Zeit durch Verschiebung aus den Albuminen in den Globulinen anhäufen, etwa als Folge der verschiedenen Halbwertszeiten der Albumine und Globuline¹²⁾¹⁸⁾⁴⁹⁾⁵⁷⁾⁵⁸⁾⁵⁹⁾⁶⁰⁾⁷⁵⁾ oder des Effektes von Selen auf ihre Synthese und Umsatz³⁾⁶¹⁾⁸⁴⁾.

Es werden jedoch bei der Zufuhr von markierten Aminosäuren doppelt so viele Aminosäuren und damit radioaktive Substanzen in die Globuline wie in die Albumine eingebaut, da die Halbwertszeit der Albumine des Kaninchens ungefähr doppelt so lang ist wie die der Gesamtglobulinfraktion⁵⁸⁾ und damit pro Zeiteinheit doppelt so viele Globuline wie Albumine neu gebildet werden müssen. Diese Tatsache allein erklärt aber die Anhäufung von ^{75}Se in den Globulinen nicht genügend. Es kommen noch weitere Faktoren hinzu, so besonders die Tatsache, daß die

Albumine im extravasculären Eiweiß 4 mal häufiger sind als die Globuline⁵⁹⁾⁶⁰⁾ und damit auch 4 mal so viele neugebildete, markierte Albuminmoleküle beim Diffusionsausgleich in den extravasculären Proteinpool abströmen. Da die erste Messung der ⁷⁵Se-Verteilung in den Serumproteinen am 2. Tag nach der letzten Injektion des markierten Materials erfolgte und der Diffusionsausgleich im gesamten austauschbaren Plasmaproteinpool zu diesem Zeitpunkt, wie auf Seite 41 berichtet, bereits zum größten Teil abgeschlossen ist, ist diese Möglichkeit durchaus denkbar. Diese zwei Faktoren, nämlich verschiedene Halbwertszeiten und Diffusionskonstanten von Albuminen und Globulinen, ergeben zusammen eine 8 mal größere spezifische Aktivität der intravasculären Globuline gegenüber den Albuminen.

Der Vollständigkeit halber sollen aber noch einige weitere Faktoren erwähnt werden, die die Anhäufung der Aktivität in den α - und β -Globulinen zusätzlich erhöhen können, nämlich die besonders schwefelreichen sauren Mucopolysaccaride, die gelegentlich in ionogener Bindung mit Plasmaproteinen vorkommen und mit ihnen wandern⁶⁷⁾⁶⁸⁾. Allerdings berichten Boström und Mitarbeiter⁶⁾ nach Versuchen mit ⁷⁵Se-Natriumselenat, daß ⁷⁵Se nicht in Organen, die Mucopolysaccharide enthalten, kumuliert. Auch an nicht organisch gebundenes ⁷⁵Se, das das Aktivitätsmaximum im α - und β -Globulinbereich zusätzlich erhöhen kann, muß in diesem Zusammenhang gedacht werden. Freies

^{75}Se , das sich nach der Eiweißfällung mit 20%iger Trichlor-essigsäure im Überstand findet, scheidet jedoch aus, da dieses gemessen wurde und in den mittleren Fraktionen meist unter 1% der jeweiligen Gesamtaktivität lag, während es in den Randfraktionen entsprechend der geringeren Gesamtaktivität bis auf 3% anstieg. McConnell und Mitarbeiter³⁸⁾⁴⁶⁾⁴⁷⁾ berichten jedoch in mehreren Arbeiten über die ^{75}Se -Verteilung in den Serumproteinen vom Hund, das ca. 80% der ^{75}Se -Aktivität bei der Papierelektrophorese 24 Stunden nach der Injektion von $^{75}\text{SeCl}_4$ in den α - und β -Globulinen zu finden war und dort mehr als 14 Wochen lang in einer ziemlich festen Bindung, wie die Dialyse zeigte, verblieb, dagegen nur 13,5 bzw. 7% in den Albuminen bzw. γ -Globulinen. Walter, Jensen und Dunlap⁸⁴⁾ kommen nach der oralen Gabe von $\text{H}_2^{75}\text{SeO}_3$ an Küken ebenso wie Westfall und Smith⁸⁶⁾ zu ähnlichen Ergebnissen. Nach Ansicht von McConnell⁴⁶⁾ handelt es sich dabei nicht um eine Adsorption des Selen an die Proteine, da es in den Serumproteinen in organischer Bindung gefunden wird, sondern um Ersatz des Aminosäure-Schwefels durch das schwefelähnliche Selen. Diese Theorie erklärt auch die Beobachtung mehrerer Autoren⁶²⁾⁴⁸⁾³⁹⁾, daß nach Zufuhr von anorganischem Selen Selenomethionin und -cystin aus Proteinhydrolysaten chromatographisch identifiziert werden konnte. Sie erklärt jedoch nicht die auffällige Anhäufung von ^{75}Se gerade in den α - und β -Globulinen. Vermutlich handelt es sich dabei nicht um einen Ersatz des Aminosäure-

Schwefels durch Selen, sondern um eine Transportfunktion der α - und β -Globuline ebenso wie für verschiedene Metalle, z.B. kolloidales Gold, so auch für das Selen, das an die Sulfhydryl-Gruppen der Proteine gebunden wird³⁴⁾. Diese Vermutung wird dadurch erhärtet, daß anorganisches Selen die Sulfhydryl-Gruppen²²⁾⁽³⁷⁾⁽⁶⁵⁾⁽⁷⁶⁾ und Oxydations-Reduktions-Prozesse²⁴⁾

hemmt und dadurch in größeren Dosen toxisch wirkt. Demzufolge wäre es also denkbar, daß auch bei den hier beschriebenen Versuchen mit organisch gebundenem ^{75}Se anorganisches ^{75}Se , das etwa bei der Verbrennung von markierten Thioaminosäuren frei wird, besonders an die Sulfhydryl-Gruppen der α - und β -Globuline gebunden und längere Zeit auf Grund einer langsamen Elutionsrate von ihnen festgehalten wird.

Schließlich muß noch diskutiert werden, ob sich Proteine, die ^{75}Se -Aminosäuren enthalten oder anorganisches ^{75}Se transportieren, nicht im elektrischen Feld anders verhalten als normale oder nicht beladene Proteine und dadurch zu einem künstlichen Aktivitätsmaximum in den betreffenden Fraktionen führen.

Die Frage, wie das in 6 getrennten Versuchen übereinstimmend beobachtete Maximum der spezifischen Aktivität im α - und β -Globulinbereich zu erklären ist, kann also nur mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit beantwortet werden: es handelt sich dabei offenbar um das Zusammenspiel mehrerer Faktoren, nämlich besonders die größere Einbaumenge von Aminosäuren in

die Globuline und das stärkere Abströmen der Albumine in den extravasculären Raum. Zusätzlich kann die Anhäufung von ^{75}Se in den Globulinen noch durch mit den Plasmaproteinen wandernde saure Muccopolysaccharide und anorganisches Selen, das möglicherweise im Sinne eines Transportes besonders an die α - und β -Globuline gebunden wird, erhöht werden.

V. Zusammenfassung

In einer schwefelarmen Hefekultur wurden die Hefeproteine mit ^{75}Se in vivo markiert und dann als hydrolysiertes Aminosäuregemisch oder als sterilisiertes Hefeprotein 10 Kaninchen subcutan, intraperitoneal oder per oral in verschiedenen Kombinationen zugeführt. Der Einbau von ^{75}Se -markierten Aminosäuren in die Plasmaproteine wurde unter gleichzeitiger Beobachtung der Aktivitätsausscheidung im Urin, die besonders in den ersten drei Tagen sehr hoch war, verfolgt. Dabei zeigte sich, daß die einfachste Methode zur Erzielung möglichst hoher spezifischer Aktivitäten der Serumproteine die per orale oder subcutane Zufuhr von hohen Aktivitätsmengen in Form von pasteurisiertem oder autoklaviertem Hefeprotein ist. Die Zufuhr von ^{75}Se -markierten Aminosäuren ist unzweckmäßig, da bei der hydrolytischen Darstellung große Mengen verloren gehen, während die Sterilisation des Hefevollpräparates viel weniger aufwendig ist und infolge geringeren Verlustes zu höheren Aktivitätsmengen führt. Einschränkend muß allerdings bemerkt werden, daß die spezifischen Aktivitäten, die nach der beschriebenen Versuchsmethode erzielt wurden, relativ gering sind und sich daher nur für Untersuchungen eignen, bei denen geringe Aktivitätsmengen benötigt werden.

Die spezifische Aktivität der gleichzeitig markierten Organe wurde gemessen und ergab höchste Werte in der Niere als Folge

der hohen ^{75}Se -Ausscheidung. In den übrigen Organen fiel die Aktivität in der Reihenfolge: Leber, Milz, Dünndarm, Pankreas Myocard, Knochenmark, Skelettmuskulatur ab, woraus auf eine abnehmende Stoffwechselintensität und Proteinumsatz dieser Organe geschlossen wurde. Die mit der Zeit ansteigende Leberaktivität kann man als Folge der Sonderstellung dieses Organs im Selenstoffwechsel im Sinne einer Speicherung deuten. Die nach der ausgearbeiteten Methode in vivo markierten Plasmaproteine wurden zu drei speziellen Untersuchungen benutzt:

- 1.) Die biologische Halbwertszeit der Gesamtserumproteine des Kaninchens wurde an Hand der linearen Aktivitätsabnahme der Bluteiweißkörper im Anschluß an den initialen raschen Abfall, der durch den Diffusionsausgleich der Plasmaproteine im gesamten austauschbaren Proteinpool erklärt wird, bestimmt und ergab mit 14 - 16 Tagen einen Wert, der beim Vergleich mit den Angaben anderer Autoren an der oberen Grenze der Norm liegt.
- 2.) Bei der Bestimmung der spezifischen Aktivität in den vertikalelektrophoretisch aufgetrennten Serumproteinfraktionen ergab sich unabhängig von der Zeit ein Maximum in den α - und β -Globulinen. Dieses Phänomen wurde als Ausdruck der kürzeren Halbwertszeit und der damit größeren Einbaurate der Globuline und des stärkeren Abströmens der Albumine in den extravaskulären Raum gedeutet.

3.) Die in Anlehnung an Literaturangaben durchgeführte Untersuchung des Plasmaproteinfilms an der Oberfläche von Kaninchenerythrocyten ergab eine Bestätigung bereits bekannter Befunde, wonach die einzelnen Plasmaproteine an der Erythrocytenoberfläche im Vergleich zu ihrer Konzentration im Blutserum teils angereichert, teils abgereichert sind.

Alle Ergebnisse wurden ausführlich diskutiert und, soweit möglich, mit den Angaben anderer Autoren, die nach Versuchen mit anderen radioaktiven Isotopen erzielt wurden, verglichen, wobei sich weitgehende Übereinstimmung zeigte. Der zur inneren Proteinmarkierung verwendete γ -Strahler ^{75}Se hat gegenüber den übrigen zur Proteinmarkierung benutzten Radioisotopen einige Vorteile, da letztere entweder schwer meßbare β -Strahler darstellen oder zur äußeren Markierung dienen, wobei die Gefahr der Eigenschaftsänderung der Proteine besteht. Damit steht der medizinischen Forschung ein radioaktives Isotop zur Verfügung, das sich zur Markierung von Proteinen in vivo und zum Studium ihres Verhaltens im Organismus gut eignet, allerdings nur für Versuche, bei denen auf hohe Eiweißaktivitäten kein Wert zu legen ist.

VII. Literaturverzeichnis

- 1.) Aamodt, L.C., P.C. Fletcher: Spin, quadrupole moment, and mass of ^{75}Se . - Physic. Rev. 98 (1955), S. 1224-29.
- 2.) Baskova, K.A., S.S. Vasil'ev, Sen-Ch'ang No, L.Ya. Shavtvalov: Decay scheme of ^{74}Br . - Zhur. Eksptl. i. Teoret. Fiz. 41, (1961), S. 1484-86.
- 3.) Bieri, J.G., C.J. Pollard: Serum protein changes in chicks. - J. Nutrition, Chicago 69 (1960), S. 301.
- 4.) Blau, Monte: Biosynthesis of ^{75}Se -Selenomethionine and ^{75}Se -Selenocystine. - Biochim.Biophysica acta, N.Y. 49 (1961) 389f.
- 5.) Blincoe, Clifton: Whole-Body Turnover of Se in the Rat. - Nature, London 186 (1960), S. 398.
- 6.) Boström, Harry, Erik Jorpes, Erik Odeblad: Autoradiographic Study on the Uptake of ^{75}Se Labelled Sodium Selenate by Different Organs of the Adult Rat. - Acta Physiol. Scand. 28, (1953), S. 255-60.
- 7.) Buescher, H., B. Bell, J. Berry: Incorporation of Se into Circulating Blood Cells of Swine. - J. Ani. Sci., Menasha 20 (1961), S. 368.
- 8.) Bunakov, V.E., B.S. Dzhelepov, I. Zvol'skif, V.A. Sergienko: Coincidences of conversion elctrons in the ^{75}Se - ^{75}As decay. - Izvest. Akad. Nauk. S.S.S.R. Ser. Fiziol. Med. 23 (1959), S. 859-63.
- 9.) Christensen, Frede, Henrik Dam, Inge Prange, Ebbe Sondergaard

- The effect of Se on vitamin-E-deficient rats. - *Acta Pharmac. Tox.*, K'hvn 15 (1958), S. 181-88.
- 10.) Clark, Alfred: Effects Arising from Inhibition of Cellular Activities by Se. - *J. Trop. Med. Hyg.*, London 43 (1940), S. 250-52.
- 11.) Cohen, Georges N., Dean B. Cowie: Total Replacement of Methionine by Selenomethionine in Proteins of *Escherichia Coli*. - *Compt. rend.* 244 (1957), S. 680-83.
- 12.) Cohen, S., R. C. Holloway, C. Matthews, A.S. McFarlane: Distribution and Elimination of ^{131}J and ^{14}C -labelled Plasma Proteins in the Rabbit. - *Biochem. J.*, London 62 (1956), S. 143-54.
- 13.) Colonna, Gary, George E. Burch, John J. Walsh, Thomas D. Darby: In Vivo Transfer of Radio-75-Se across the Pericardium of Dogs. - *Texas Rep. Biol. Med.* 21 (1963), No. 3.
- 14.) Cousins, F.B., I.M. Cairney: Selenium Metabolism in Sheep. - *Austral. J. Agr. Res.* 12 (1961), S. 927-42.
- 15.) Cowie, Dean B., Georges N. Cohen: Biosynthesis by *Escherichia Coli* of Active Altered Proteins Containing Se instead of Sulfur. - *Biochim. Biophysica acta* 26 (1957), S. 252-61.
- 16.) DeWitt, W.B., K. Schwarz: Multiple dietary necrotic degeneration in the mouse. - *Experientia*, Basel 14 (1958), S. 28-30.
- 17.) Diplock, A.T., E.E. Edwin, J. Bunyan, J. Green: The effect of tocopherol, vitamin A, Se, and antioxidants on ubiquinone in the rat. - *Brit. J. Nutr.* 15 (1961), S. 425-41.

- 18.) Dixon, F.J., D.W. Talmage, P.H. Maurer, M.P. Deichmiller:
Labelling of Plasma Proteins with ^{131}Jod . - J. Exper. Med.,
N.Y. 96 (1952), S. 313.
- 19.) Garrison, Warren M., Roy D. Maxwell, Joseph G. Hamilton:
Carrierfree Radioisotope from Cyclotron Targets: Preparation
and Isolation of ^{75}Se from Arsenic. - J. Chem. Physic. 18
(1950), S. 155.
- 20.) Gest, H., R.R. Edwards: Preparation of Carrier-free Se
Tracer by Using a Szilard-Chalmers Reaction. - Natl. Nuclear
Energy Ser. Div. IV, S.9.
- 21.) Gest, H., L.E. Glendenin: Half Life and Radiations of ^{75}Se . -
Natl. Nuclear Energy Ser. Div. IV, S. 9.
- 22.) Giubileo, Massimo, Ricardo R. Pollini: Se: physiopathology
and clinical data of its intoxication. - Med. lavoro, Milano
47 (1956), S. 328-39.
- 23.) Grant, C.A., B. Thafvelin, R. Christell: Retention of Se by
Pig Tissues. - Acta Pharmac. Tox., K'hvn 18 (1961), S. 285-97.
- 24.) Graziani, Giuseppe: Enzymes and industrial pathology. I.
General physiopathology. - Fol. med. , Napoli 35 (1952),
S. 537-71.
- 25.) Grigor'ev, E.P., A.V. Zolotavin, V.Ya.Klement'ev, R.V.
Sinit'syn: Determination of relative intensities and conver-
sion coefficients of transitions occurring during ^{75}Se decay. -
Izvest. Akad. Nauk. S.S.S.R. Ser. Fiziol. Med. 23 (1959),
S. 159-84.

- 26.) Gortner jr., Ross A., Howard B. Lewis: Retention and Excretion of Se after the Administration of Sodium Selenite to White Rats. - J. Pharmacol., Kyoto 67 (1939), S. 358-64.
- 27.) Heidelberger, M., R. Schoenheimer, S. Ratner, D. Rittenberg: The Interaction of Antibody Proteins with Dietary Nitrogen in Actively Immunized Animals. - J. Biol. Chem., Baltimore 144 (1942), S. 545.
- 28.) Heidelberger, M., R. Schoenheimer, S. Ratner, D. Rittenberg: The Interaction of the Blood Proteins of the Rat with Dietary Nitrogen. - J. Biol. Chem., Baltimore 144 (1942), S. 541.
- 29.) Heinrich jr., Max, F.E. Kelsey: Studies on Se Metabolism: The Distribution of Se in the Tissues of the Mouse. - J. Pharmacol. Exper. Therap., Baltimore 114 (1955), S. 28-32.
- 30.) Hogue, D.E., J.F. Proctor, R.G. Warner, J.K. Loosli: Relation of Se, Vitamin E, and an unidentified factor to muscular dystrophy (stiff-lamb or white-muscle disease) in the lamb. - J. Animal Sci. 21 (1962), S. 25-29.
- 31.) Jensen, Erling N., Jackson L. Laslett, Don S. Martin jr., Francis J. Hughes, William W. Pratt: Radiations from ⁷⁵Se. - Physic. Rev. 90 (1953), S. 557-63.
- 32.) Keilhack, H. - A.e. P.P. 180 (1936), S. 1 (nach Hoppe-Seyler/Thierfelder: Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse IV/1).
- 33.) Kuttler, N., R. Marble, L. Blincoe: Incorporation of Se into Circulating Blood Cells of Sheep. - Am. J. Vet. Res. 22 (1961) S. 422.

- 34.) Lamson, G.P., H.L. Klug: Preparation of Se derivatives of
sulfhydryl compounds. - Proc. South Dakota Acad. Sci. 27
(1948), S. 47-49.
- 35.) Lipiński, Stanislaw: Se Distribution in the Organism. -
Med. Pracy 10 (1959), S. 187-98.
- 36.) Malý, Jaromír, Jaroslav Kutzendörfer, Voytěch. Macháček,
Václav Kouřim, Václav Jefábek: Decay of fission products
from Uranium-233, Uranium-235, and Plutonium-239. - Czechoslov.
J. Physic., Praha 7 (1957), S. 45-56.
- 37.) Mann, T.: Mode of action of spermicidal agents. - Proc. Soc.
Study Fertility, Cambridge 6 (1954), S. 41-49.
- 38.) McConnell, Kenneth P., Betty J. Cooper: Distribution of Se
in Serum Proteins and Red Blood Cells after Subcutaneous
Injektion of Sodium Selenate Containing Radioselenium. -
J. Biol. Chem., Baltimore 183 (1950), S. 459-66.
- 39.) McConnell, Kenneth P., A.E. Kreamer: Incorporation of ^{75}Se
into dog hair. - Proc. Soc. Eptl. Biol. Med., N.Y. 105
(1960), S. 170-73.
- 40.) McConnell, Kenneth P., R.S. Levy: Presence of ^{75}Se in lipo-
proteins. - Nature, Washington 195 (1962), S. 774-76.
- 41.) McConnell, Kenneth P., Richard G. Martin: Biliary Excretion
of Se in the Dog after Administration of Sodium Selenate
Containing Radioselenium. - J. Biol. Chem., Baltimore 194
(1952), S. 183-90.
- 42.) McConnell, Kenneth P., H.G. Mauntner, G.W. Leddicotte:

- Radioactivation as a Method for Preparing ^{75}Se -labelled Compounds. - *Biochim. Biophysica acta* 59 (1962), S. 217 f.
- 43.) McConnell, Kenneth P., O.W. Portmann, R.H. Rigdon: Intra-vascular Life Span of the Duck Red Blood Cells as Determined by Radioactive Se. - *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, N.Y. 83 (1953), S. 140-43.
- 44.) McConnell, Kenneth P., Dorothy M. Roth, Duncan R. Dallam: Partition of ^{75}Se in the Intracellular Particulate Matter of Rat Liver. - *Nature*, Washington 183 (1959), S. 183 f.
- 45.) McConnell, Kenneth P., Dorothy M. Roth: ^{75}Se in Rat Intracellular Liver Fractions. - *Biochim. Biophysica acta* 62 (1962), S. 503-08.
- 46.) McConnell, Kenneth P., E.J. van Loon: Distribution of ^{75}Se in Serum Proteins as Determined by Paper Elektrophoresis. - *J. Biol. Chem.*, Baltimore 212 (1955), S. 747-50.
- 47.) McConnell, Kenneth P., C.H. Wabnitz, D.M. Roth: Time-Distribution Studies on ^{75}Se in Dog Serum Proteins. - *Texas Rep. Biol. Med.* 18 (1960), S. 438-45.
- 48.) McConnell, Kenneth P., C.H. Wabnitz: Fixation of Radio-selenium in Proteins. - *J. Biol. Chem.*, Baltimore 266 (1957), S. 765-76.
- 49.) McFarlane, A.S.: Labelling of Plasma Proteins with ^{131}Jod . - *Biochem. J.* 62 (1956), S. 135-43.
- 50.) Miura, Hajime: Distribution of Inorganic Se in Animal Tissues. *Kokumin Eisei*, Kyoto, Nippon 27 (1958), S. 336-42.

- 51.) Mudd, Harvey S., G.L. Cantoni: Selenomethionine in Enzymic Transmethylations. - Nature 180 (1957), S. 1052.
- 52.) Müller, H.E., F. Gramlich: Die normale Zusammensetzung des Plasmäproteinfilmes an der Oberfläche menschlicher Erythrocyten. - Hoppe-Seylers Zschr. physiol. Chem. 334 (1963), 103.
- 53.) Müller, H.E., F. Gramlich: Ergänzende Untersuchungen zum Plasmäproteinfilm an der Oberfläche normaler, menschlicher Erythrocyten. - Naturwissenschaften 50 (1963), S. 447.
- 54.) Müller, H.E., F. Gramlich: Weitere Untersuchungen zum Serumproteinfilm an der Oberfläche normaler menschlicher Erythrocyten. - Acta haematol., Basel 30 (1963), S. 236-43.
- 55.) Müller, H.E., F. Gramlich: Die normale Zusammensetzung des Plasmäproteinfilms an der Oberfläche von Kaninchenerythrocysten. - Experientia, Basel 19 (1963), S. 571-73.
- 56.) Niklas, A.: Messungen zur Neubildungsrate von Serumweiß. - Angew. Chemie 66 (1953), S. 111.
- 57.) Niklas, A., Maurer, W.: Über die Neubildungsrate einzelner getrennter Serum-Eiweißfraktionen nach oraler Gabe von ^{35}S -l-Methionin. - Naturw. 39 (1952), S. 260.
- 58.) Niklas, A., Maurer, W., H. Krause: Messung der biologischen Halbwertszeit einzelner Serum-Eiweißfraktionen beim Kaninchen. - Biochem. Zschr., Berlin 325 (1954), S.464.
- 59.) Niklas, A., W. Maurer: Über die Neubildungsrate einzelner getrennter Serum-Eiweißfraktionen nach oraler Gabe von ^{35}S -l-Methionin. - Biochem. Zschr., Berlin 323 (1952), 89-103

- 60.) Niklas, A., H. Poliwoda: Zur Frage der biologischen Halbwertszeit menschlicher Albumine und Globuline. - Biochem. Zschr., Berlin 326 (1954), S. 97.
- 61.) Reid, B.L., M.M. Rahman, B.G. Creech, J.R. Couch: Se and development of exudative diathesis in chicks. - Proc. Soc. Exper. Biol. Med., N.Y. 97 (1958), S. 590-93.
- 62.) Rosenfeld, Irene: Biosynthesis of Seleno-Compounds from Inorganic Se by Sheep. - Proc. Soc. Exper. Biol. Med., N.Y. 111 (1962), S. 670-73.
- 63.) Rosenfeld, Irene, O.A. Beath: The Elimination and Distribution of Se in the Tissues in Experimental Se Poisoning. - J. Nutrit., Philadelphia 30 (1945), S. 443-49.
- 64.) Roquebert, J., G. Vitte: Fixation and Elimination of Se in the Course of Intoxication in the Rabbit. - Bull. Soc. Pharm., Bordeaux 111 (1962), No. 4, S. 237-42.
- 65.) Rumler, W.: The pharmacology and toxicology of Se. - Zschr. inn. Med., Leipzig 15 (1960), S. 705-11.
- 66.) Schultz, Julius, Howard B. Lewis: The Excretion of Volatile Se Compounds after the Administration of Sodium Selenite to White Rats. - J. Biol. Chem., Baltimore 133 (1940), S. 199-207.
- 67.) Schultze, H.E.: Biochemie der Glycoproteine des menschlichen Blutplasmas. - Proc. Congr. Europ. Soc. Haemat. 8 (1961), S. 167.
- 68.) Schultze, H.E.: Die Glykoproteide des menschlichen Plasmas.-

- Bull. Schweiz. Akad. med. Wiss. 17 (1961), S. 77.
- 69.) Schwarz, Klaus, Calvin M. Foltz: Se as an integral part of factor 3 against dietary necrotic liver degeneration. - J. Am. Chem. Soc., Elaston 79 (1957), S. 3292 f.
- 70.) Shemin, D., D. Rittenberg: Some Interrelationships in General Nitrogen Metabolism. - J. Biol. Chem., Baltimore 153 (1944), S. 401.
- 71.) Smith, M.J., B.B. Westfall, E.F. Stohlman: The Elimination of Se and its Distribution in the Tissues. - U.S. Publ. Health Repts. 52 (1937), S. 1171-77.
- 72.) Smith, M.J., B.B. Westfall, E.F. Stohlman: Fate of Se in the Organism. - U.S. Publ. Health Repts. 53 (1938), S. 1199-1216.
- 73.) Snook, L.C.: Se: an essential trace element. - J. Dept. Agr. West. Australia 1 (1960), S. 737-39.
- 74.) Steinbock, H.L., H. Tarver: The effect of the protein content of the diet on turnover. - J. Biol. Chem., Baltimore 209 (1954), S. 127.
- 75.) Stevens, K.M., I. Grag, M.S. Schwartz: Turnover of Serum Proteins. - Amer. J. Physiol. 175 (1953), S. 147.
- 76.) Tsen, Cho ching, Bruce H. Collier: Selenite as a relatively weak inhibitor of some sulfhydryl enzymes. - Nature 183 (1959), S. 1327 f.
- 77.) Tuve, Tryge W.: Incorporation of Se by Escherichia Coli and the Identification of Selenomethionine as a Component of the Proteins. - Univ. Microfilms, L.C. Card No. Mic. 58-5602,

- 90 pp. Dissertation Abstr. 19 (1958), S. 1198.
- 78.) Tuve, Tryge W., Harold H. Williams: Identification of Selenomethionine in the Proteins of Escherichia Coli by Use of the Chromatographic "Fingerprint Method". - J. Amer. Chem. Soc. 79 (1957), S. 5830 f.
- 79.) Tuve, Tryge W., Harold H. Williams: Metabolism of Se by Escherichia Coli: Biosynthesis of Selenomethionine. - J. Biol. Chem., Baltimore 236 (1961), S. 597-601.
- 80.) Painter, Edgar P.: New Synthesis of Se Analogs of d,l-Cystine and Cysteine Derivatives. - J. Amer. Chem. Soc. 69 (1947), S. 229-32.
- 81.) Painter, Edgar P.: Synthesis of Se Analogs of d,l-Methionine and d,l-Homocystine. - J. Amer. Chem. Soc. 69 (1947), S. 232-34.
- 82.) Petersen, D.F., H.L. Klug, R.D. Hershfield: Expiration of volatile Se compounds from selenized rats. - Proc. South Dakota Acad. Sci. 30 (1951), S. 73-78.
- 83.) Varma, J., M.A. Eswaran: Decay of ^{75}Se and the lifetime of the 280-K.e.v. state of ^{75}As . - Physic. Rev. 125 (1962), S. 656-59.
- 84.) Walter, E.D., L.S. Jensen, J.S. Dunlap: Distribution of ^{75}Se in Serum Proteins of Chicks and Influence of Se on Albumine Recovery. - Proc. Soc. Exper. Biol. Med., N.Y. 114 (1963), No. 2, S. 527.
- 85.) Walter, E.D., L.S. Jensen, J.S. Dunlap: Incorporation of

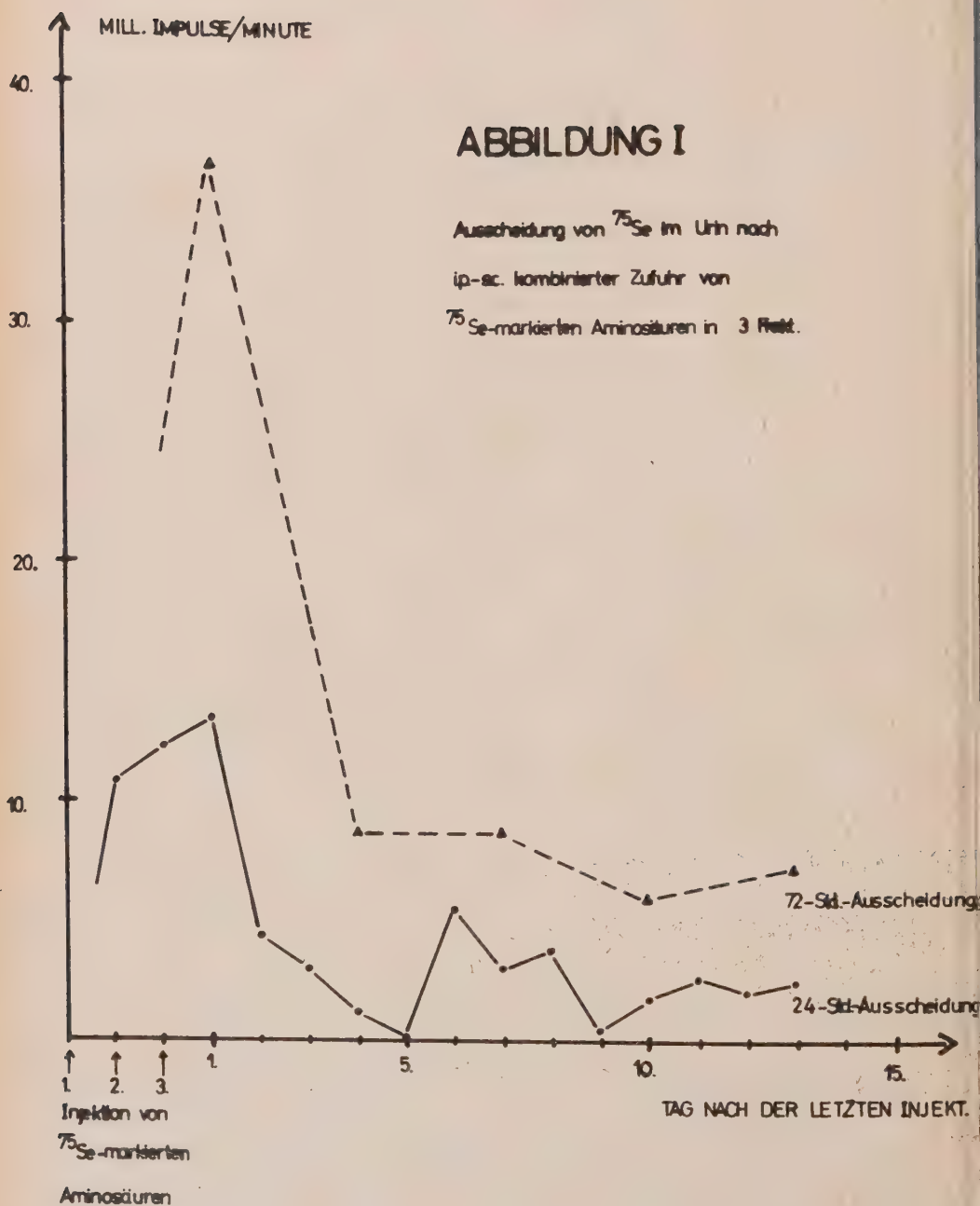
- Se into Circulating Blood Cells of Chicks. - Proc. Soc. Exper. Biol. Med., N.Y. 112 (1963), S. 899.
- 86.) Westfall, B.B., M.J. Smith: Distribution of Se in Plasma and Liver Proteins and its Fractionation in Tryptic Liver Digests. - U.S. Publ. Health Repts. 55 (1940), S. 1575-83.
- 87.) Williams, Loring, R., Abraham Ravve: Synthesis of Se Analogs of D,L-Cystine. - J.Amer. Chem. Soc. 70 (1948), S. 1244 f.
- 88.) Wright, P.L., M.C. Bell: Se and Vitamine E Influence upon the in Vitro Uptake of ^{75}Se by Ovine Blood Cells. - Proc. Soc. Exper. Biol. Med., N.Y. 114 (1963), S. 379.
- 89.) Wuhrmann, F., C. Wunderly: Bluteiweißkörper des Menschen, Benno Schwabe & Co Verlag, Basel/Stuttgart, 1957, 3. Auflage, S. 35 und 46.
- 90.) Yuile, C.L., B.G. Lamson, L.L. Miller, G.H. Whipple J. Exper. Med., N.Y. 93 (1951), S. 539.
- 91.) Zdansky, Goran: The Synthesis of Selenomethionine. - Arkiv Kemi, Stockholm 19 (1962), S. 559-62.

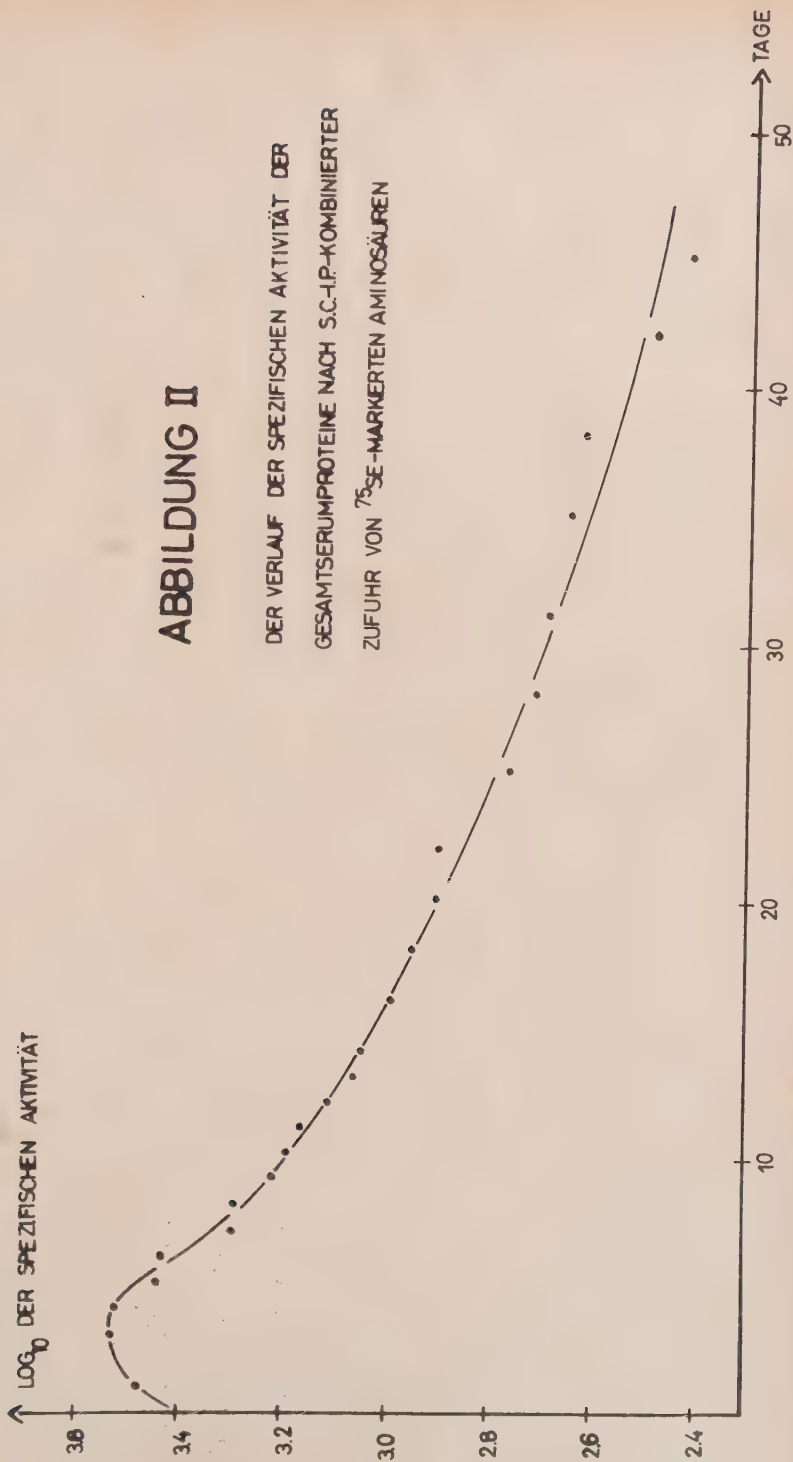
Die Zeitschriftenkurztitel wurden der "Periodica medica" von Walter Artelt, Edith Meischkel, Carl Wehmer, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1952 bzw. den "World Medical Periodicals" von C.H.A. Fleurent und H.A. Clegg, World Medical Association, New York, 3. Auflage, 1961 entnommen.

MILL. IMPULSE/MINUTE

ABBILDUNG I

Ausscheidung von ^{75}Se im Urin nach
ip.-sc. kombinierter Zufuhr von
 ^{75}Se -markierten Aminosäuren in 3 Fkkt.

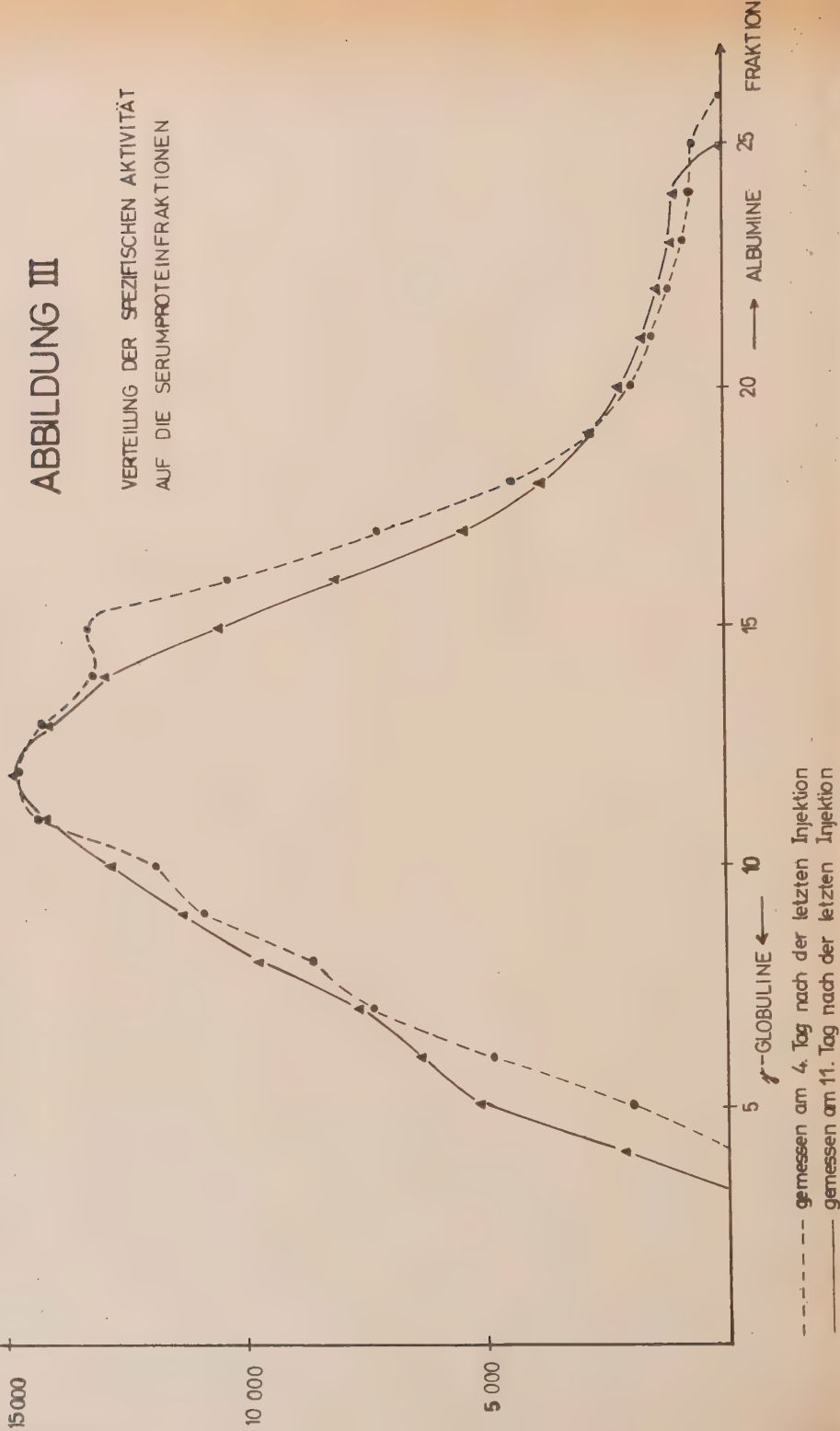




SPEZIFISCHE AKTIVITÄT

ABBILDUNG III

VERTEILUNG DER SPEZIFISCHEN AKTIVITÄT
AUF DIE SERUMPROTEINFRAKTIONEN



----- Prozentuale Verteilung der Proteine im Plasma nach der Papierelektrophorese

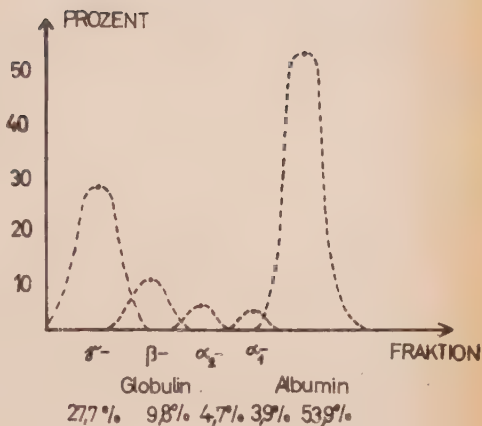
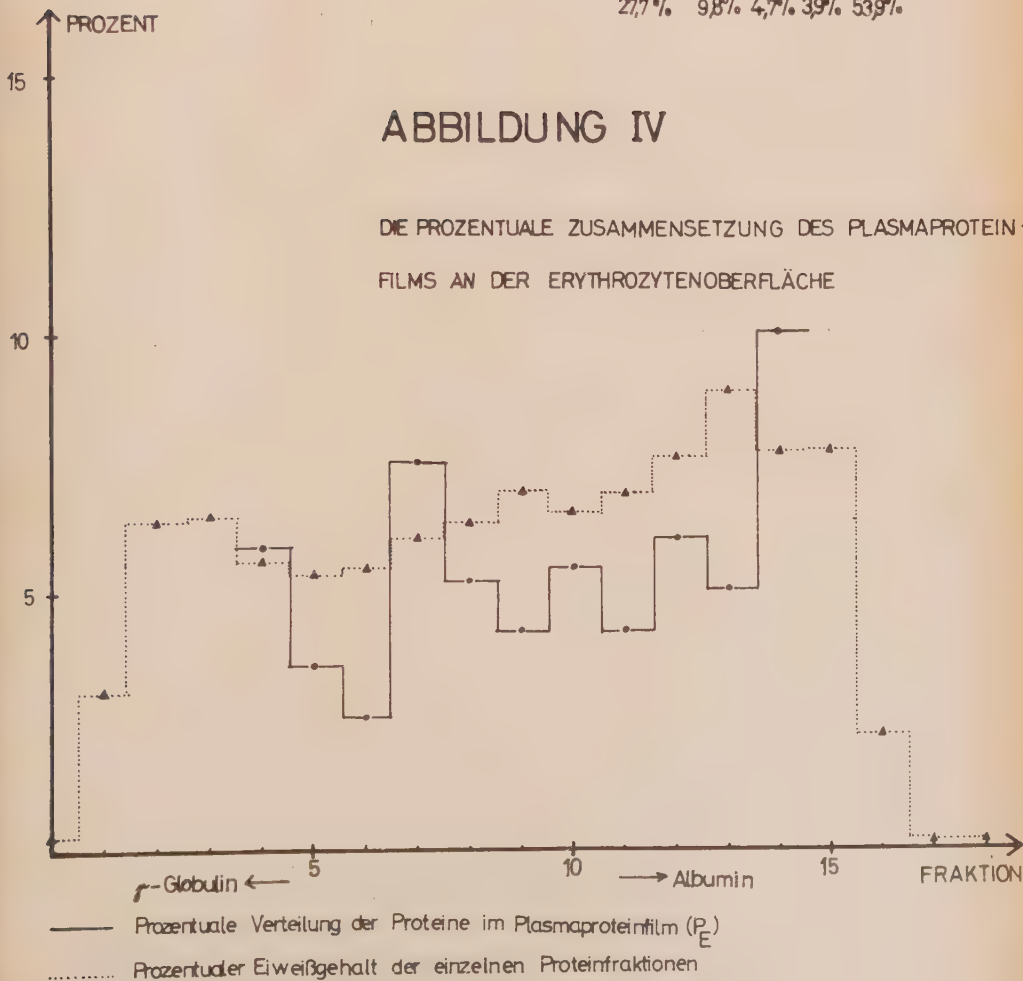


ABBILDUNG IV

DIE PROZENTUALE ZUSAMMENSETZUNG DES PLASMAPROTEINFILMS AN DER ERYTHROZYTENOBERFLÄCHE



Danksagung

Ich danke Herrn Professor Dr. R. Duesberg für die Bereitstellung eines großzügig ausgestatteten Arbeitsplatzes und Herrn Privatdozent Dr. F. Gramlich für die Überlassung des Themas und die Hilfe bei der Durchführung der Versuche und Abfassung der Arbeit.

Lebenslauf

Am 18. Oktober 1939 wurde ich als Sohn des Stabsarztes Dr. med. Bruno Gerber und seiner Ehefrau Luise Gerber, geb. Kramer, in Kassel geboren. Von Ostern 1946 bis 1950 besuchte ich in Uelzen die Grundschule. Ostern 1950 wurde ich auf das neusprachlich-naturwissenschaftliche Gymnasium für Jungen umgeschult. Nach Versetzung meines Vaters als Oberfeldarzt der Bundeswehr nach Mainz besuchte ich ab Ostern 1958 das Gutenberg-Gymnasium in Wiesbaden und bestand dort im Frühjahr 1960 die ordentliche Reifprüfung.

Im Sommersemester 1960 und im Wintersemester 1960/61 studierte ich an der Johannes Gutenberg-Universität Mainz Medizin und legte im April 1961 die naturwissenschaftliche Vorprüfung mit dem Gesamturteil "sehr gut" ab. Nachdem ich im folgenden Sommersemester die Freie Universität Berlin besucht hatte, kehrte ich an die Mainzer Universität zurück und bestand nach weiteren zwei Semestern die ärztliche Vorprüfung mit dem Gesamturteil "gut" im Oktober 1962. Das klinische Studium belegte ich an der Johannes Gutenberg-Universität Mainz und absolvierte nach 6-semestrigem Studium im Januar 1966 die ärztliche Prüfung mit dem Gesamturteil "sehr gut".

Mainz, den 11. Februar 1966

